



A.D. MDLXII

**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI**

---

**SCUOLA DI DOTTORATO IN  
RIPRODUZIONE, PRODUZIONE, BENESSERE ANIMALE  
E SICUREZZA DEGLI ALIMENTI DI ORIGINE ANIMALE**  
Direttore Prof. Giovanni Garippa

**INDIRIZZO IN  
RIPRODUZIONE, PRODUZIONE E BENESSERE ANIMALE (XXII ciclo)**  
Coordinatore Prof. Sergio Ledda

**EFFETTO DI UNA SOLUZIONE ENDOVENOSA  
A BASE DI CALCIO GLUCONATO  
NEL POST PARTUM DI BOVINE DA LATTE  
AD ALTA PRODUZIONE**

**Docente guida  
dottor MICHELE PAZZOLA**

**Tesi di dottorato del  
dottor STEFANO BUA**

**Anno Accademico 2008-2009**

## Indice

1	Introduzione	”	1
1.1	Il parto e il <i>post partum</i> .	”	2
1.2	Strumenti e parametri per la valutazione dell’efficienza nutrizionale e riproduttiva nella specie bovina.	”	9
1.3	Utilizzo dell’ultrasonografia nella pratica buiatica.	”	14
1.4	L’ipocalcemia nella bovina da latte ad alta produzione.	”	18
1.5	L’allevamento bovino da latte in Sardegna.	”	27
1.6	La razza bovina Frisona Italiana.	”	31
2	Scopo della ricerca	”	38
3	Materiali e metodi	”	41
4	Risultati	”	50
5	Discussione	”	57
6	Conclusioni	”	64
7	Bibliografia	”	66

### *Ringraziamenti*

# 1. Introduzione

## **1.1 IL PARTO E IL *POST PARTUM*.**

Il parto rappresenta il momento culminante della gravidanza e consiste nella espulsione del feto e degli annessi. È un fenomeno prevalentemente meccanico, caratterizzato dal passaggio del feto nel canale pelvico materno (Cristofori e Aria 1979). I fattori che attivano il processo del parto sono di ordine nervoso, endocrino e meccanico (Arthur 1980). Tra questi, uno dei più importanti è considerato la maturazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene del feto. Infatti, l'accresciuta secrezione dei corticosteroidi fetali nell'ultimo periodo di gravidanza sarebbe responsabile dell'aumentata capacità della placenta di sintetizzare estrogeni, necessari per innescare il meccanismo del parto (Aguggini et al. 1992).

Normalmente in una bovina pluripara la fase espulsiva del feto avviene in meno di un'ora, mentre nelle manze in 1-3 ore. Nel bovino, Mee (2008) facendo riferimento alla presentazione del sacco amniotico come punto di partenza, afferma che il parto eutocico viene normalmente esaurito in un tempo compreso tra 30 minuti e 4 ore, con una durata media di 70 minuti.

Il post partum segue il parto e può schematicamente essere suddiviso in tre fasi: secondamento, puerperio e lattazione (Cristofori e Aria 1979).

Il secondamento comprende la fase di espulsione degli annessi placentari ed è concomitante alla fase di involuzione uterina. Nella specie

bovina, caratterizzata da una placentazione di tipo sindesmo-coriale, il distacco e l'espulsione della placenta si considerano fisiologici quando avvengono entro le 6-12 ore (Richter e Götze 1986), mentre ulteriori ritardi possono indicare successive complicazioni patologiche.

Il puerperio è, invece, la seconda fase del post partum e come detto avviene cronologicamente in parallelo con l'espulsione della placenta. In condizioni fisiologiche è caratterizzato da un processo involutivo dell'utero, che termina con il raggiungimento di dimensioni e rapporti caratteristici della femmina non gravida. L'utero va incontro ad una diminuzione di volume e ad una rigenerazione endometriale; nelle specie ruminanti tale processo si esaurisce in circa tre settimane.

Nel periodo del post partum, la bovina in produzione, oltre ad una normale involuzione uterina, va incontro ad una ripresa dell'attività ciclica ovarica. Il normale svolgersi di questi processi, nell'allevamento intensivo, è necessario per la successiva manifestazione ed osservazione dei calori e quindi per una nuova fecondazione. Infatti, lo scopo principale delle tecniche d'allevamento del bovino da latte è quello di ottenere un nuovo concepimento entro circa 80 giorni dal parto, in modo che l'interparto sia pari a 365 giorni.

La ripresa dell'attività ovarica è legata alla stimolazione da parte della pulsatilità dei nuclei ipofisari secernenti LH. Questi, una volta cessata l'inibizione da parte del progesterone e degli estrogeni, iniziano ad avere un'efficace influenza sull'ovaio. Nella specie bovina è

riconoscibile la crescita delle onde follicolari entro 7-10 giorni dopo il parto (Crowe 2008).

Infatti, nel bovino, in genere la prima ovulazione è silente e il relativo corpo luteo ha una durata ridotta a causa del prematuro rilascio di prostaglandine F2 $\alpha$ . La regressione di questo corpo luteo avviene in contemporanea con la seconda ovulazione, che porta al normale manifestarsi dei comportamenti estrali e ad una normale durata della fase luteale (Crowe 2008).

Gli effetti delle variazioni alimentari di questo periodo possono avere un ruolo fondamentale sulla ripresa dell'ovulazione (Roche et al. 2000). Inoltre, il mutamento della dieta produce dei risultati più acuti nelle bovine specializzate nella produzione del latte a causa della aumentata richiesta energetica necessaria per la lattazione.

La mancata o insufficiente ovulazione è costantemente associata all'assenza dei picchi preovulatori di LH e FSH, che spesso è determinata da un prolungamento della fase luteale (Opsomer et al. 1998).

La causa della ritardata luteolisi è stata a sua volta ricondotta ad una inadeguata induzione estrogeni-dipendente dei recettori per l'ossitocina presenti nell'endometrio, necessari per la produzione e il rilascio di prostaglandine F2 $\alpha$ . D'altra parte un aumento delle patologie dell'utero, quali infezioni, distocie o ritenzioni placentari, può essere determinante nell'incidenza di una anormale ripresa della ciclicità ovarica (Roche 2000).

Il periparto o periodo di transizione è, nella bovina lattifera in allevamento intensivo, un lasso di tempo compreso tra le quattro settimane precedenti e successive al parto, ed è caratterizzato da un aumento generalizzato del rischio di sviluppare patologie condizionate (Stevenson e Lean, 1998). Si stima che il 75% delle patologie totali si manifesti durante questo periodo, producendo problematiche sia di interesse epidemiologico che economico (Gnemmi et al. 2005).

Questo periodo è caratterizzato da un'ampia successione di adattamenti della bovina alla futura lattazione, che comprendono una complicata serie di mutamenti nel metabolismo dell'animale, e consentono all'animale di prepararsi ad affrontare la sua futura vita produttiva (Bauman e Currie, 1980).

La preparazione al parto e all'inizio della lattazione sono considerate tra le prove più difficoltose che la bovina da latte deve fronteggiare. Si registra infatti una diminuita assunzione di alimenti, che causa una cascata di eventi metabolici quali la diminuita capacità di captazione di acidi grassi dalle papille ruminali, l'aumentato rischio di acidosi dovuta ad un insufficiente adattamento della flora ruminale ed infine la diminuita immunocompetenza prodotta dalle alte concentrazioni di estradiolo ed estrogeni del preparto (Goff e Horst 1997). Alla luce di queste considerazioni, una corretta gestione del periodo di transizione è, nella bovina da latte, una prerogativa essenziale per il mantenimento di

elevati livelli sanitari, di benessere ed efficienza riproduttiva (Roche et al. 2000).

Uno dei fattori principali per la corretta gestione del periparto è il controllo dello stato di ingrassamento corporeo attraverso la valutazione del *body condition score* (BCS). Le bovine da latte ad alta produzione dovrebbero affrontare il periodo d'asciutta con un BCS compreso tra 3,5 e 3,75 (Roche et al. 2000). Altri autori suggeriscono un punteggio più basso, tra 3 e 3,25 (Melendez e Risco 2005).

Punteggi superiori a questi sono spesso causa di epatopatie, diminuita ingestione, prolungamento del periodo di anaestrosi e aumento degli insuccessi fecondativi (Grummer 1993). Per raggiungere questi obiettivi è stato suggerito che la razione di preparazione al parto venga introdotta almeno quattro settimane prima del parto stesso, in modo che la microflora ruminale si possa adattare alla dieta del post partum (Goff e Horst 1997; Van Saun 1997).

Inoltre, è necessario massimizzare l'ingestione di alimento, attraverso l'uso di alimenti ad alta palatabilità, l'aumento dello spazio utile in mangiatoia e della frequenza della distribuzione della razione (Grant e Albright 1995). Infine, la gestione dello stress e dell'immunosoppressione è raggiungibile attraverso la corretta gestione delle tecniche d'allevamento, l'integrazione con vitamina E e selenio e il controllo del bilancio cationi-anioni nella dieta per diminuire l'incidenza delle malattie metaboliche (Roche et al. 2000).



Nonostante queste indicazioni vengano correttamente adottate, gli adattamenti del metabolismo possono talvolta non avere un risultato positivo, e perciò causare disordini dell'omeostasi che includono l'ipocalcemia, la sindrome della vacca a terra, l'ipomagnesemia, la chetosi, le metriti ed infine l'ipofertilità (Gnemmi et al. 2005; DeGaris e Lean 2008).

Queste patologie sono spesso correlate tra loro e, considerato che si manifestano insieme a profondi cambiamenti endocrini e metabolici del parto e dell'inizio della lattazione, fanno del periodo di transizione una delicata fase della vita produttiva della bovina (Mulligan e Doherty 2008).

A causa di queste problematiche e al fine di aumentare le produzioni, la sanità e le prestazioni riproduttive, la manipolazione nutrizionale e metabolica della bovina peripartoriente, è divenuto un argomento di grande interesse della ricerca scientifica in medicina veterinaria.

Le ricerche sono orientate soprattutto alla prevenzione delle patologie, essendo i costi terapeutici molto elevati. Infatti, questi includono sia alcune voci dirette come le spese veterinarie e farmaceutiche, ma anche i costi indiretti come ad esempio la mancata produzione o l'aumentata percentuale di animali da riformare (Gnemmi et al. 2005). Una ricerca condotta negli USA negli anni '90 ha

evidenziato dei costi medi notevoli, che per un collasso puerperale, venivano stimati in 330\$ (Guard 1996).

## **1.2 STRUMENTI E PARAMETRI PER LA VALUTAZIONE DELL'EFFICIENZA NUTRIZIONALE E RIPRODUTTIVA NELLA SPECIE BOVINA.**

Si è detto nel paragrafo precedente che le variazioni alimentari e il bilancio energetico negativo del post partum possono avere un ruolo fondamentale sulla ripresa dell'ovulazione.

Numerosi indicatori, come ad esempio la misura delle concentrazioni ematiche degli acidi grassi non esterificati (NEFA) o del  $\beta$ -idrossibutirrato, sono stati proposti per la stima dello stato nutrizionale. Tuttavia, il punteggio di condizione corporea o body condition score (BCS), è lo strumento pratico che può fornire una funzionale verifica dello stato energetico e quindi delle conseguenti prestazioni produttive e riproduttive dell'animale (Nebel e McGilliard 1993).

Il BCS rappresenta una stima soggettiva delle riserve corporee stoccate nel grasso e nei muscoli negli animali e, in particolare, viene utilizzato negli animali lattiferi (Hady et al. 1994).

A partire dagli anni '60, con la pubblicazione del lavoro di Jefferies sul BCS nella specie ovina, sono stati proposti molteplici metodi e schemi applicativi. Per la bovina da latte le più utilizzate sono le tecniche di Wildman (1982) ed Edmonson (1989).

Tutte le tecniche che misurano il BCS, in generale, sono basate sulla stima tattile e visiva della quantità di grasso corporeo della bovina e

hanno una scala di valori compresa tra 1 (animale emaciato) e 5 (obeso). La variazione dei punteggi di BCS durante le fasi produttive può avere una forte influenza sulle produzioni, sulla riproduzione e sulla salute delle bovine. Quindi, in una mandria, il BCS è uno strumento utile per tenere sotto controllo sia lo stato nutrizionale che le funzioni riproduttive.

Tuttavia, soprattutto in passato, il BCS non è stato ampiamente utilizzato poiché, specialmente nelle stalle più grandi, la gestione viene attuata soprattutto per gruppi e non per singolo animale (Hady et al. 1994).

Un ulteriore parametro che viene considerato con sempre maggiore interesse, è il controllo dei corpi chetonici. Tale controllo può avvenire su vari liquidi biologici, come il sangue e le urine, ed è uno dei sistemi per la prevenzione e la diagnosi della chetosi o acetonemia, nelle forme clinica e subclinica.

La chetosi è una patologia relativa all'eccessiva carenza energetica che si manifesta all'inizio della lattazione, con riduzione dell'appetito e delle produzioni, manifestazioni nervose, e talvolta può influenzare la fertilità. In Nord Europa e Nord America, le forme cliniche hanno un'incidenza tra il 4 e il 21%, mentre quelle subcliniche possono arrivare fino al 34% (Dirksen et al. 2004).

L'incidenza della chetosi è maggiore nelle bovine sovralimentate nel periodo dell'asciutta, ma la patologia può colpire anche vacche in corretto stato nutrizionale e persino magre. Infatti, la chetosi è spesso una

problematica di stalla, visto che, a prescindere dallo stato nutrizionale, viene spesso ricondotta alle elevate prestazioni produttive delle bovine (Dirksen et al. 2004). L'eziologia risiede in una eccessiva produzione dei corpi chetonici, che sono il prodotto dell'esagerato catabolismo dei grassi in assenza di una corretta mobilizzazione glucidica; il loro aumento nel circolo ematico avviene quando, per soddisfare l'elevata richiesta produttiva dell'inizio della lattazione, si registrano la rapida mobilizzazione e il catabolismo dei grassi di riserva.

Il corpo chetonico circolante più rappresentato è il  $\beta$ -idrossibutirrato. Per questo metabolita, il limite soglia per il sospetto di iperchetonemia è stato fissato da alcuni autori a 0,40 mmol/mL di sangue, mentre la riduzione delle prestazioni riproduttive avverrebbe quando si raggiungono 2,00 mmol/mL (Andersson et al. 1991).

La misurazione dei corpi chetonici avviene generalmente con l'utilizzo di strisce reattive che vengono bagnate con alcune gocce di sangue, latte o urina.

Per quanto riguarda le prestazioni riproduttive, numerosi parametri, misure ed indici sono stati proposti ed utilizzati.

Nel comparto dell'allevamento della bovina da latte, si utilizza spesso la dicitura anglosassone di *open days*, che è definito come il periodo compreso tra il parto e il nuovo concepimento. Questo periodo è influenzato dall'efficienza della rilevazione e registrazione dei calori, dalla corretta ripresa ovarica e dalla salute dell'animale, ma anche da

collaudate tecniche di gestione aziendale come ad esempio l'attesa volontaria che si inframmezza tra il parto e il primo intervento fecondativo (Nebel e McGilliard 1993).

L'attesa volontaria nel moderno allevamento intensivo della bovina da latte è generalmente di 60 giorni, ma talvolta a seconda delle esigenze e dello stato sanitario della bovina può essere diminuito fino circa 45 giorni. L'eccessiva diminuzione della durata ottimale dell'attesa volontaria, può portare ad una importante diminuzione della percentuale dei processi fecondativi (Monetti 1998; Meadows 2005).

Tale periodo è necessario affinché la prima fecondazione post partum venga effettuata dopo che sono avvenuti i normali processi che portano l'utero ad una diminuzione di volume e ad una rigenerazione endometriale e l'ovaio ad una ripresa ciclica.

Un'altra misura dell'efficienza riproduttiva è il cosiddetto interparto, definito come il periodo di tempo che intercorre tra due parti in successione. Naturalmente, poiché la gravidanza ha una durata estremamente rigida, questo è influenzato soprattutto dall'intervallo parto-concepimento di cui si è discusso in precedenza. Nell'allevamento bovino l'interparto ideale medio di una mandria dovrebbe avere una durata di 365 giorni, che con una durata della gravidanza di 285 giorni, impone di ottenere un nuovo concepimento entro 80 giorni dal parto (Dhaliwal et al. 1996), e conseguire in questo modo una lattazione e una asciutta di 305 e 60 giorni, rispettivamente.

Considerando la durata dell'intervallo parto-concepimento e dell'interparto, è quindi evidente che le esigenze gestionali dell'allevamento e il conseguimento della massima efficienza dell'intervento fecondativo avvengano quando si rispetta un'attesa volontaria di 60 giorni. Tuttavia è evidente che il rispetto di tale tempistica, coincida con la massima funzionalità produttiva, poiché nella bovina il picco della lattazione è raggiunto 40-75 giorni dopo il parto e circa la metà dell'intera produzione è ottenuta nel primo terzo della lattazione calcolata a 305 giorni (Dhaliwal et al. 1996).

Il monitoraggio di una elevata efficienza riproduttiva, oltre che con l'intervallo parto-concepimento, viene completato con il calcolo della percentuale di concepimenti alla prima fecondazione, il *first service conception rate* (FSCR) della letteratura anglosassone.

Questo viene calcolato come la proporzione del numero delle bovine diagnosticate gravide dopo il primo intervento fecondativo e, come detto in precedenza, poiché una riduzione dell'attesa è associata ad una diminuzione dei valori di FSCR (Reimers et al. 1985), a livello di mandria ci dovrebbe essere un corretto bilanciamento dei due indicatori (Dhaliwal et al. 1996).

### **1.3 UTILIZZO DELL'ULTRASONOGRAFIA NELLA PRATICA BUIATRICA.**

L'uso dell'ultrasonografia nel campo ginecologico della medicina umana iniziò negli anni '70 al fine di effettuare una precoce diagnosi e controllo della gravidanza. Alla fine degli anni '80 questa tecnica fu applicata anche al monitoraggio di utero ed ovaio degli animali domestici, e già dopo un decennio era considerata un'utile strumento di supporto per l'incremento delle produzioni animali (Lucy et al. 1991). Il successo dell'ultrasonografia nella medicina degli animali da reddito derivava quindi dalla assenza di invasività e dal fatto che fosse capace di elaborare una diagnosi in tempo reale. È singolare osservare che nel 1986 l'autore statunitense Ginther sostenesse che “la diagnostica ultrasonografica, nel campo della ricerca dei grossi animali e nella clinica della riproduzione, è la più grande applicazione tecnologica dopo l'introduzione della palpazione transrettale e le tecniche di dosaggio radioimmunologico degli ormoni circolanti” (Fricke 2005). A confermare queste affermazioni è l'accuratezza dei risultati diagnostici che si possono ottenere con l'ultrasonografia. Ad esempio, la diagnosi manuale di una ciste luteinica è corretta nel 43% dei casi contro un'attendibilità ultrasonografica dell'87% (Gnemmi 1999).

Nel bovino, queste caratteristiche permisero un monitoraggio transrettale continuo delle dinamiche follicolari, dei corpi lutei e, in generale, dell'apparato genitale nei processi fisiologici e patologici



(Miyamoto et al. 2006). Attualmente, nell'allevamento intensivo del bovino da latte, l'utilizzo degli apparecchi ecografici include anche moderne applicazioni come l'aspirazione follicolare transvaginale e la raccolta degli oociti, oltre che alcune procedure di embryo transfer (Fricke 2002).

Nella pratica giornaliera molti Veterinari buiatri si sono trovati di fronte alla necessità o al problema dell'utilizzo dell'ultrasonografia. Alcuni hanno optato per l'utilizzo di questa tecnologia, mentre altri sono rimasti scettici sui benefici pratici ed economici che derivano dall'uso dell'ecografia. Questi ultimi continuano ad affidarsi alla palpazione transrettale, che continua ad essere il metodo più diffuso per il monitoraggio dell'apparato riproduttivo femminile. Il passaggio all'ultrasonografia deve essere generalmente preceduto dall'accertamento che questa tecnica, rispetto alla palpazione transrettale, possa fornire una più elevata accuratezza o qualità delle informazioni cliniche fornite. Inoltre, a livello di mandria, è necessario inserire l'uso dell'ecografo in una strategia di gestione riproduttiva che fornisca un ritorno economico quantificabile (Fricke 2005).

Gli apparecchi ad ultrasuoni consistono in una unità elettronica, un visualizzatore d'immagine e un trasduttore, o sonda, che emette e riceve onde ultrasoniche ad alta frequenza. Le sonde lineari sono costituite da una serie di cristalli piezo-elettrici disposti in linea, che forniscono una immagine rettangolare, mentre le sonde settoriali

producono un'immagine conica. Le sonde lineari più utilizzate in buiatria sono quelle per uso transrettale e hanno frequenze variabili tra 5,0 e 7,5 MHz, poiché l'utilizzo della frequenza pari a 5,0 MHz consente una maggior penetrazione in profondità dei tessuti, mentre quella di 7,5 MHz un miglior dettaglio delle immagini. Alla fine degli anni '90 una apparecchiatura ecografica per la pratica buiatrica aveva un costo variabile tra 15 e 40 milioni di lire (Gnemmi 1999), attualmente tra 8000 e 12000€ (Fricke 2005).

I principali impieghi dell'ultrasonografia nella pratica ginecologica buiatrica sono la diagnosi di gravidanza e il monitoraggio di follicoli, corpi lutei e utero.

Con l'uso dell'ecografo, la diagnosi di gravidanza precoce è possibile già dal 22-23esimo giorno dalla fecondazione, ma in generale avviene dal 27esimo per avere dei margini di errore più limitati. Infatti, a 27 giorni dal concepimento la percentuale di bovine poi risultate non più gravide a 90 giorni è inferiore al 6% (Gnemmi 2000).

Per quanto riguarda l'ovaio, l'indagine ecografica esamina soprattutto il monitoraggio del follicolo dominante, che si sviluppa fino ad un diametro di circa 1 centimetro, e del corpo luteo che può avere strutture compatte o cavitarie. Se consideriamo che con l'uso della esplorazione manuale, la probabilità media di una diagnosi errata di un Veterinario esperto in ginecologia bovina si aggira intorno al 30%, lo studio ultrasonografico dell'ovaio, ci permette di stabilire, con una

precisione più elevata, lo stadio del periparto o del ciclo ovarico in cui si trova la bovina. Naturalmente, questo dovrà essere integrato con quello dell'utero, che come detto nei paragrafi precedenti ritorna alle condizioni normali circa 30 giorni dopo il parto (Gnemmi 2000).

L'uso dell'ultrasonografia può verosimilmente portare alla scomparsa dell'errore diagnostico manuale e questo, in una stalla, porta anche ad una riduzione della media del periodo parto-concepimento. Il verificarsi di queste situazioni può offrire delle ottime possibilità di migliorare le condizioni del bilancio aziendale. Infatti, è stato calcolato che, oltre i 100 giorni dal parto, il costo medio di un giorno per una vacca non gravida (*open days*) è stimato in 4-5 dollari americani (circa 3-4€). Se consideriamo che con l'uso dell'ultrasonografia, il recupero degli *open days* può arrivare fino al 5% del totale dei bovini presenti in stalla, e che a questo va aggiunto un minor costo per i farmaci e una riduzione delle spese di management (Gnemmi 2001), l'investimento iniziale per l'acquisto di un apparecchio ad ultrasuoni può essere una delle soluzioni possibili per la corretta gestione del periodo di transizione della bovina da latte ad alta produzione.

#### **1.4 L' IPOCALCEMIA NELLA BOVINA DA LATTE AD ALTA PRODUZIONE.**

L'ipocalcemia è una condizione patologica che si manifesta nel periodo del post partum dei mammiferi. Ha una frequenza più elevata negli animali lattiferi, e di conseguenza è una condizione studiata e ben documentata soprattutto nelle bovine da latte ad alta produzione (Wilde 2006).

La base eziologica è rappresentata dall'inizio della lattazione e dal parallelo aumento di fabbisogno di calcio.

Infatti, un litro di latte contiene circa 1,25 g di Ca e quindi, con l'inizio della lattazione, si verifica un aumento esponenziale del fabbisogno della frazione mobilizzabile di questo minerale, e di conseguenza una diminuzione della calcemia. Tale situazione è spesso abbinata ad un lento adattamento del metabolismo ai nuovi fabbisogni rapidamente cresciuti. Il metabolismo del calcio è regolato da numerosi e complessi fattori

Tra i principali il paratormone (PTH), l'1,25-diidrossi-colecalciferolo (forma attiva della vitamina D) e la tireocalcitonina (Figura 1).

Questi regolatori agiscono in vari distretti dell'organismo, quali il compartimento osseo, l'apparato digerente, i reni, il sangue e i liquidi extracellulari e, naturalmente durante e subito dopo la gravidanza, nei tessuti del feto e nella mammella, rispettivamente.

Stefano Bua, Effetto di una soluzione endovenosa a base di calcio gluconato nel post partum di bovine da latte ad alta produzione, Tesi di dottorato in Riproduzione, produzione, benessere animale e sicurezza degli alimenti di origine animale, Università degli Studi di Sassari

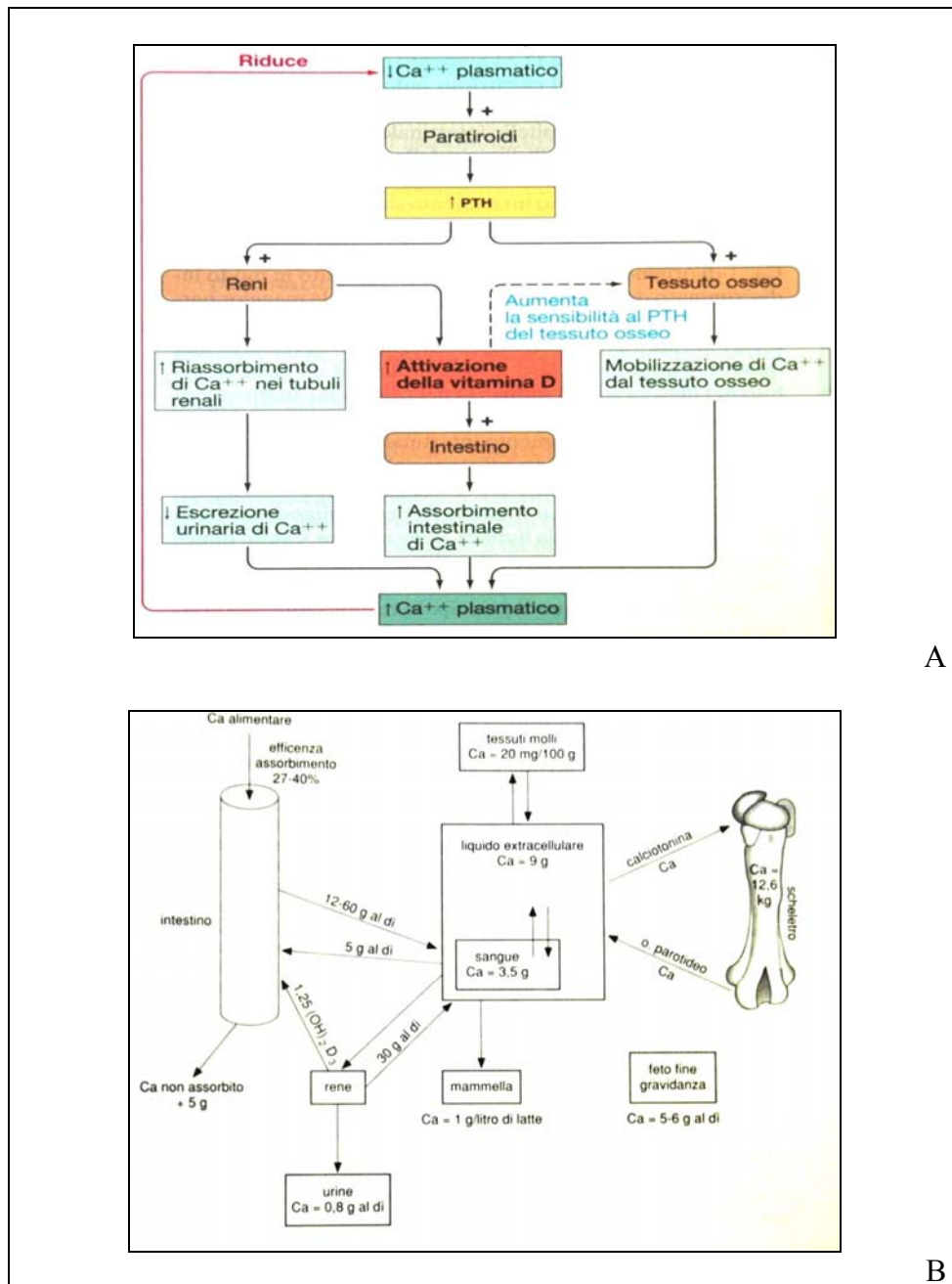


Figura 1. A: interazioni tra PTH e vitamina D nel controllo della calcemia (da Sherwood et al. 2006); B: metabolismo del calcio nella bovina in lattazione (da Aguggini et al. 1992).

Con l'inizio della lattazione il bilancio del calcio diventa negativo e tale situazione stimola la secrezione di PTH e un'aumentata

Stefano Bua, Effetto di una soluzione endovenosa a base di calcio gluconato nel post partum di bovine da latte ad alta produzione, Tesi di dottorato in Riproduzione, produzione, benessere animale e sicurezza degli alimenti di origine animale, Università degli Studi di Sassari

concentrazione di 1,25-diidrossi-colecalciferolo [1,25(OH<sub>2</sub>)D<sub>3</sub>]. Nelle vacche in ipocalcemia la secrezione di PTH è normale, ma la risposta degli organi bersaglio è insufficiente o rallentata. Una delle ipotesi più accreditate per l'eziopatogenesi dell'ipocalcemia afferma che, con l'aumentare dell'età, vi sia un calo dei recettori per l'1,25-diidrossi-colecalciferolo, presenti su questi organi. Un'altra teoria chiarisce che la refrattarietà agli stimoli ormonali è provocata da una alimentazione ricca in calcio somministrata agli animali nell'ultimo periodo dell'asciutta. Infatti, gli animali coprono il loro fabbisogno di calcio attraverso il calcio assorbito dall'alimento e, mancando il riassorbimento attivo dalle riserve endogene, vengono a diminuire la secrezione di PTH e l'attivazione della vitamina D in 1,25-diidrossi-colecalciferolo a causa dell'elevata calcemia. Ciò si traduce in una riduzione dei recettori specifici per la vitamina D (Dirksen et al. 2004).

È stato anche dimostrato che, durante alcune disfunzioni metaboliche come l'acidosi, sia i reni che le ossa manifestano un ridotto stimolo al PTH (Dirksen et al. 2004).

Le variazioni del metabolismo del Ca, indotte dall'instaurarsi della lattazione, hanno, sull'incidenza delle patologie del post partum, un effetto più intenso rispetto al parto stesso, poiché una bovina ad alta produzione può perdere nel latte fino a 50 g di Ca al giorno (DeGaris e Lean 2008). Nei giorni precedenti il parto, una bovina necessita di circa 30 g di Ca/giorno, che comprendono circa 15 g di Ca perduti in feci e

urine e 15 g per la crescita fetale. Questa richiesta viene soddisfatta con l'aumentato assorbimento ruminale e intestinale, e dall'aumentata mobilizzazione delle riserve corporee, ovvero dal comparto osseo, poiché le riserve ematiche circolanti sono alquanto limitate. La calcemia nelle bovine da latte è normalmente mantenuta entro un intervallo compreso tra 8 e 10 mg/100 ml (Goff et al. 1996). Questi animali sono in grado di affrontare una perdita approssimativa delle riserve circolanti, oltre la quale si manifesta una crisi ipocalcémica (DeGaris e Lean 2008). Il livello teorico al di sotto del quale possiamo parlare di ipocalcemia, viene stimato pari a 7,5 mg/100 ml (Melendez et al. 2002).

L'ormone PTH è inoltre responsabile della idrossilazione finale della vitamina D, e tale reazione avviene nel rene. Il PTH aumenta la mobilizzazione del Ca osseo, mentre l' $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  agisce aumentando l'assorbimento intestinale e la mobilizzazione ossea. Quando il calcio fornito nella dieta aumenta, si registra un'ovvia diminuzione dell'efficienza dell'assorbimento intestinale e della mobilizzazione ossea (Ramberg, 1995). Le bovine periparturienti fanno fronte alla diminuzione della calcemia, aumentando le concentrazioni di PTH e quindi di  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ . Questi eventi fisiologici sfociano in un aumento dell'assorbimento intestinale, del riassorbimento osseo e nel tubulo renale di Ca. Le bovine hanno comunque delle capacità limitate di adattamento al nuovo momento produttivo, soprattutto nel momento di piena attuazione di questi processi, e il parto è uno dei momenti

fisiologici che può portare al verificarsi della ipocalcemia (El-Samad et al. 2002).

D'altra parte, nonostante il 99% del Ca dell'organismo sia mineralizzato a livello osseo, la mobilizzazione da questo comparto è influenzata da molte variabili (DeGaris e Lean 2008). Ad esempio, nelle bovine pluripare e in quelle alimentate nel periparto con diete ricche di Ca, si registra una rallentata mobilizzazione dal comparto osseo (Ramberg et al. 1984). Le bovine hanno quindi un'omeostasi del Ca che dipende in maniera maggiore dall'assorbimento intestinale piuttosto che dal comparto osseo. Di conseguenza, questo sistema predispone all'ipocalcemia, quando si verifica un deficit nella secrezione di PTH o nella risposta della mucosa intestinale al  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ . Infatti, le bovine che manifestano il collasso puerperale mostrano più elevati livelli ematici di PTH e  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ , rispetto alle bovine sane (Horst et al. 1978).

Alcune ricerche hanno investigato circa l'ereditabilità dell'ipocalcemia, talvolta con risultati contrastanti. Payne (1977) registrava un'ereditabilità del 12.8%, mentre altri autori (Norman e van Vleck, 1972; Dohoo et al., 1984) dello 0% e 4%, rispettivamente.

D'altra parte è nota la suscettibilità di alcune razze a questa patologia, come ad esempio la razza Jersey rispetto alla Frisona (Harris 1981; Horst et al. 1997), e, come già discusso, delle bovine pluripare rispetto alle primipare.



Quest'ultimo fenomeno viene associato ad una diminuita capacità di mobilizzazione del Ca dall'osso che si registra con il trascorrere delle lattazioni, a causa di un diminuito numero di recettori per l' $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  nell'intestino (Horst et al. 1990).

Inoltre, le bovine con stato nutrizionale eccessivo (superiore a 3,5 punti di BCS in una scala da 1 a 5) sviluppano un'aumentata incidenza dell'ipocalcemia (Heuer et al. 1999).

In linea generale, la forma morbosa dell'ipocalcemia viene affrontata nelle sue forme cliniche e subcliniche (Dirksen et al. 2004), entrambe spesso associate ad altre manifestazioni patologiche.

Le forme cliniche sono rappresentate soprattutto dalla malattia denominata collasso puerperale o in termine anglosassone *milk fever*. Questa malattia consiste in un disturbo acuto metabolico del calcio e si manifesta con il decubito permanente e nei casi gravi con il coma dell'animale (Dirksen et al. 2004). Lo stato di ipocalcemia, sia nelle forme cliniche che subcliniche, è quindi un importante fattore in grado di condizionare l'attività riproduttiva e produttiva delle bovine, favorendo l'elevata incidenza di danni all'apparato genitale come la ritenzione placentare, di patologie metaboliche come la chetosi o infine di gravi disturbi come la dislocazione dell'abomaso (Horst et al. 1997; Melendez e Risco 2005; Goff 2008).

Tutte queste disfunzioni influiscono negativamente sulla durata dell'intervallo parto-concepimento e sulla fertilità delle bovine, così

come sul costo delle terapie da adottare (Horst et al. 1997; Melendez e Risco 2005). In generale, le forme cliniche di ipocalcemia vengono trattate con l'infusione endovenosa di sali di calcio (Horst et al. 1997; Goff 2008) che riescono a ristabilire in breve tempo le condizioni fisiologiche dell'animale anche dopo una sola somministrazione (Dirksen et al. 2004; Risco 2004); l'effettiva ripresa produttiva e riproduttiva può quindi subire un arresto o un rallentamento (Horst et al. 1997; Melendez e Risco 2005; Kamgarpour et al. 1999).

Le bovine spesso accusano numerosi stati disfunzionali come ad esempio l'inappetenza, che possono compromettere in modo decisivo l'instaurarsi della fase ascendente della curva di lattazione (Figura 2).

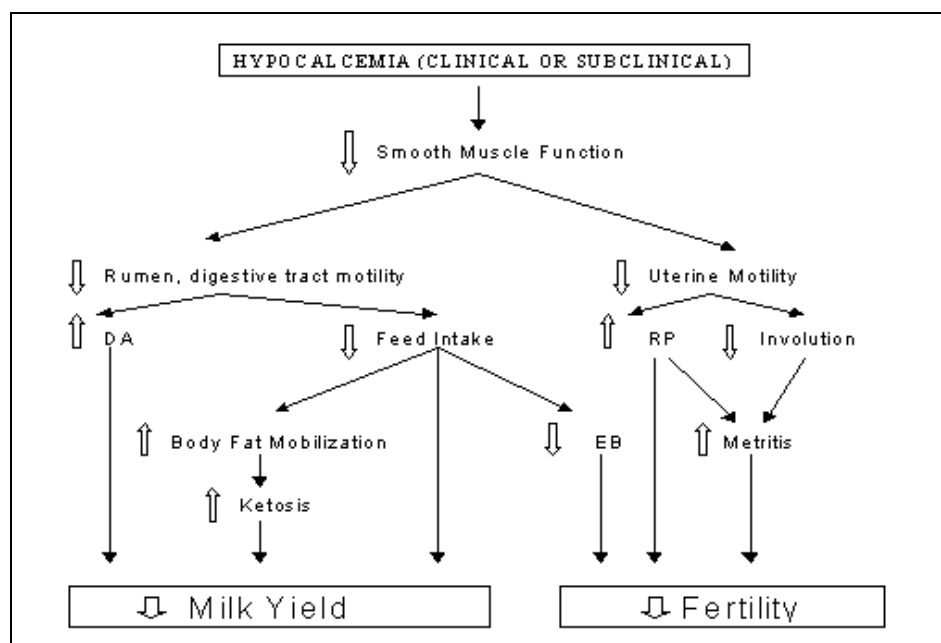


Figura 2. Schema degli eventi che portano alla diminuzione delle produzioni latte e della fertilità. DA: Dislocazione abomasale, RP: ritenzione placentare, EB: bilancio energetico.(da Oetzel e Goff 1999).

Per questo motivo la prevenzione dell'ipocalcemia dovrebbe essere un obiettivo importante per gli allevatori (Risco 2004; Goff 2008). La ricerca in campo zootecnico e farmacologico ha elaborato varie soluzioni per la prevenzione di tali forme (Horst et al. 1997), dato che la spesa economica per i trattamenti preventivi è sicuramente inferiore alla perdita complessiva risultante dalla somma delle voci in precedenza citate: visite veterinarie, acquisto dei farmaci, mancata produzione di latte, diminuzione delle performance riproduttive ed aumento della quota di rimonta (Melendez e Risco 2005).

Tra queste soluzioni hanno riscosso notevole interesse le formulazioni dietetiche tendenti a modificare il contenuto minerale della razione. Alcune agiscono sulla progressiva diminuzione del contenuto di calcio nel periodo precedente il parto e hanno lo scopo di stimolare le ghiandole paratiroidi nella secrezione di ormone paratiroideo, preparando l'animale ad affrontare il post partum e la successiva lattazione, in modo da regolare l'assorbimento e il ricambio del calcio nei vari distretti dell'organismo (ossa, intestino, sangue, rene, utero e mammella) (Wilde 2006; Dirksen et al. 2004; Kamgarpour et al. 1999). Altre, più recenti, si basano su indagini relative al rapporto dietetico tra cationi e anioni, in particolare tramite un aumento a favore della componente anionica in grado di prevenire l'insorgenza delle manifestazioni ipocalcemiche post-partum (Goff 2008; Melendez et al. 2002). L'esatto meccanismo è tuttora oggetto di studio e di valutazione, soprattutto perché un eccessivo

sbilanciamento a favore della componente anionica può portare a gravi acidosi metaboliche e a una drastica riduzione di palatabilità della razione (Horst et al. 1997; Goff 2008). Di recente si sono resi disponibili formulati orali a base di sali di calcio in forma di gel destinati a vacche partorienti (Horst et al. 1997; Pehrson et al. 1998), ma alcuni di questi presentano diversi svantaggi, quali un'eccessiva causticità e la necessità di essere somministrati in doppia dose, al momento del parto e 24 ore dopo (Goff 2008). Nel corso dell'attività clinica di campo, sono state segnalate anche alcune soluzioni pratiche: una di queste consiste nella somministrazione a scopo preventivo (e cioè prima di una possibile diagnosi di ipocalcemia puerperale) di soluzioni endovenose a base di sali di calcio nelle ore successive al parto (Risco 2004), ma in letteratura non sono reperibili dati sperimentali che attestino l'efficacia del trattamento.

### **1.5 L'ALLEVAMENTO BOVINO DA LATTE IN SARDEGNA.**

La Sardegna è storicamente considerata una regione che, nello scenario nazionale Italiano, primeggia nell'allevamento dell'ovino da latte. Infatti, la locale razza ovina Sarda rappresenta un eccellente genotipo lattifero perfettamente adattato al territorio e al suo clima, e si è poi diffusa in altre zone d'Italia e del Mediterraneo. Questa razza, con 202.000 animali e 2.127 aziende iscritte al libro genealogico nella sola regione sarda, è la base dell'allevamento ovino isolano, che può contare su 3.300.000 capi e 16.000 aziende sul territorio regionale (AssoNaPa 2009; IZSA&M 2009).

Oltre all'allevamento ovino, che insieme alle risorse turistiche rappresenta la principale parte dell'economia della regione Sardegna, vi sono altre attività zootecniche, che, seppure in maniera numericamente limitata, sono attualmente paragonabili, per il livello tecnologico e la qualità dei prodotti, con quelle della penisola e del continente Europeo.

Una di queste è l'allevamento del bovino da latte. Questo settore è diffuso soprattutto nelle zone di pianura e nei territori che vennero bonificati nei primi decenni del XXI secolo e durante il fascismo, come il Campidano di Cagliari ed Oristano, il comune di Arborea, la piana di Ozieri, la pianura della Nurra nel Sassarese e Fertilia nel territorio comunale di Alghero (Figura 3).



Figura 3. Diffusione delle aziende specializzate nell'allevamento bovino da latte in Sardegna.

Stefano Bua, Effetto di una soluzione endovenosa a base di calcio gluconato nel post partum di bovine da latte ad alta produzione, Tesi di dottorato in Riproduzione, produzione, benessere animale e sicurezza degli alimenti di origine animale, Università degli Studi di Sassari

In base a dati aggiornati al mese di agosto del 2009, nel complesso l'allevamento bovino isolano conta su 9.735 aziende, di cui 1.102 con orientamento produttivo del latte, e 269.000 capi totali, di cui circa 30.000 vacche da latte in produzione (IZSA&M 2009).

Il 75% di queste (1.102 aziende) sono all'interno della Provincia di Oristano e rappresentano un'eccellente esempio di specializzazione produttiva di tipo intensivo dell'allevamento bovino da latte. Inoltre, in questa provincia, e più precisamente nel Comune di Arborea, è presente la più grande centrale del latte dell'isola, che con 200 milioni di litri e un fatturato di 140 milioni di euro per anno (Latte Arborea 2009), raccoglie e trasforma il 90% del latte totale prodotto in Sardegna.

La realtà produttiva sarda, in maniera parallela a quanto è avvenuto nel quadro nazionale, ha subito un profondo mutamento in un periodo di tempo limitato. Infatti, nel quinquennio 2005-2009 si è registrata la chiusura di circa 2.300 aziende bovine con orientamento produttivo del latte, con una particolare crisi nelle classi di consistenza con meno di 10 capi, mentre sono sostanzialmente immutate o aumentate le aziende medie con consistenza tra i 10 e 49, e grandi, tra 50 e 499 capi (elaborazione dati IZSA&M 2009, Figura 4).

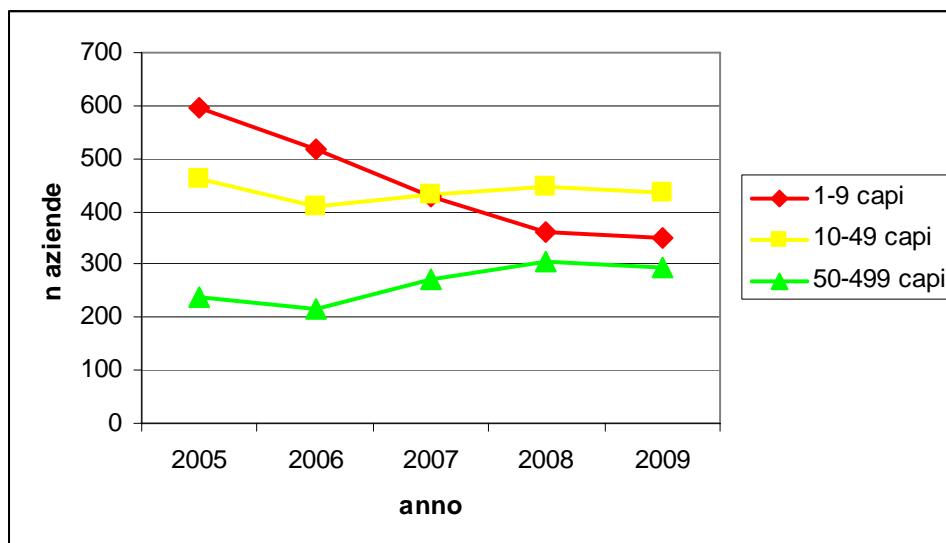


Figura 4. Numero delle aziende bovine da latte in Sardegna in funzione della consistenza e dell'anno.

Questa situazione è la diretta conseguenza di un generale regresso del settore, causato dall'aumento generalizzato dei costi di gestione, soprattutto di quelli alimentari, e da una diminuzione costante del cosiddetto prezzo del latte alla stalla. Tenendo conto del fatto che in seguito all'introduzione della politica delle "quote latte", il mercato comunitario europeo del latte vaccino è estremamente rigido, questi due fattori hanno portato alla chiusura degli allevamenti che economicamente non avevano più la possibilità di affrontare il mercato. Parallelamente, gli allevatori che sono riusciti a sopravvivere hanno aumentato il numero di vacche in produzione e assorbito quella fetta di mercato lasciata libera, potendo contare su bovine che forniscono produzioni sempre più elevate.



## 1.6. LA RAZZA BOVINA FRISONA ITALIANA.

Nell'Italia dell'ultimo secolo, la storia della Frisona rispecchia in stretto parallelo l'evoluzione dell'agricoltura e dell'allevamento. Infatti, le attività agricole nella penisola erano molto differenti da quelle moderne, ed anche i fattori di condizionamento sociali erano completamente differenti da quelli attuali.

Questa razza è originaria dell'area costiera del nord dell'Europa, compresa tra le odierne Germania, Paesi Bassi e Danimarca (Figura 5) e trae il suo nome dalla omonima provincia olandese e dal *landkreis* tedesco (circondario) della Bassa Sassonia, la Frisia. Inoltre, la denominazione nordamericana *Holstein Friesian* comprende il nome *Holstein*, l'antica *Holsazia* dei latini, che richiama la regione più settentrionale della Germania, lo *Schleswig-Holstein*.

Le prime testimonianze di allevamenti di bovini specializzati nella produzione del latte in queste regioni, risalgono al 1200 d.C., e i mercanti di bestiame Olandesi dell'epoca erano ben celebrati per la loro abilità nell'allevamento e nel commercio di bovini in tutta l'area nordeuropea (Fusco 1990). Fino a quell'epoca le testimonianze pittoriche dei bovini Olandesi ci descrivono animali dal mantello bruno, mentre la diffusione del pezzato nero sembra risalire all'importazione di bovini da altre aree, e in particolare dallo Jutland (la parte settentrionale della odierna Danimarca), per far fronte alle numerose perdite di animali in seguito alle epizootie del 1700 (Felius 1985).



Figura 5. Nell'ovale rosso è evidenziata l'area costiera del Nord Europa compresa tra le odierne Germania, Paesi Bassi e Danimarca, culla d'origine dei bovini di razza Frisona.

La diffusione del mantello pezzato nero si amplificò successivamente, quando i mercanti Olandesi notarono che gli animali dal mantello pezzato avevano una spiccata attitudine alla produzione del latte e questo particolare fenomeno, in assenza delle conoscenze genetiche che possediamo attualmente, consentì di selezionare il bestiame per la produzione del latte, in quanto era sufficiente preferire il carattere fenotipico del mantello pezzato nero per avere un migliore

genotipo lattifero (Fusco 1990). L'abilità degli allevatori Olandesi del 1800 è oggi riconosciuta dal fatto che la bovina pezzata nera di ceppo Frisona sia comunemente chiamata anche "Olandese", nonostante si sia poc'anzi detto che la sua culla d'origine è individuabile in una zona comune anche a Germania e Danimarca.

La fissazione genetica della razza e l'abilità commerciale degli Olandesi portarono alla diffusione dell'antica razza in tutta Europa e in Nord America, a cui fece seguito la nascita e lo sviluppo dei diversi ceppi, tutti principalmente indirizzati alla produzione del latte.

In particolare, nel territorio degli Stati Uniti d'America furono importati dai Paesi Bassi fino all'anno 1905, circa 7000 capi di bovini di razza Frisona. Questi costituirono il nucleo primordiale della moderna razza Holstein Friesian, il quale orientamento selettivo fu incentrato, già dagli inizi del ventesimo secolo, verso elevate produzioni quantitative e sulla percentuale di grasso. Quest'ultimo era necessario per la produzione di burro, che, a differenza delle popolazioni mediterranee che prediligono l'olio di oliva, è per quelle nordamericane e nordeuropee una delle principali fonti di grassi alimentari. I due allevamenti che maggiormente si distinsero in questa selezione furono il Carnation Milk Farm e il Pabst Farm.

In Italia la razza Frisona dell'antico ceppo Olandese fu importata intorno al 1870 in alcune aziende della Pianura Padana, che scelsero una razza fortemente indirizzata alla produzione lattea, preferendola alla

Bruna Alpina, che all'epoca rappresentava l'eccellenza dell'animale a triplice attitudine: carne, latte e lavoro. Il successo della Frisona si sviluppò quando il progresso delle tecniche agronomiche e zootecniche e il fiorente mercato dei caseifici e della commercializzazione del latte, stimolarono gli allevatori alla ricerca di una razza bovina lattifera che potesse soddisfare queste esigenze. Infatti, già nel 1908, nell'area padana vi erano oltre 60.000 capi di razza Frisona.

L'espansione della razza, come di tutta la zootecnica Italiana, fu quasi azzerata dalla prima guerra mondiale, ma riprese alla fine degli anni '20 con l'introduzione di riproduttori provenienti dalla Carnation Milk Farm presso l'azienda di Torre in Pietra, nei pressi di Roma. Il successo della Frisona e degli animali importati dagli USA fu tale che nel 1940 la razza contava già 188.000 capi e, circa 20 anni dopo nel 1962, nonostante la violenta recessione causata dalla seconda guerra mondiale, aveva una consistenza pari a quella della Bruna.

Attualmente la Frisona Italiana è la razza bovina che ha la più elevata consistenza numerica in Italia. Secondo le statistiche ufficiali dell'Associazione nazionale degli allevatori di Frisona Italiana (ANAFI 2009), nell'anno 2008 si contavano 1.101.868 vacche e 13.150 allevamenti iscritti al libro genealogico, con una consistenza media di 82 vacche per allevamento. La produzione di latte calcolata in kg ha visto recentemente registrato un notevole incremento, se calcoliamo che nell'arco di 10 anni, e cioè dal 1999 al 2008, si è passati da una lattazione

media di 8.096 kg a 8979 kg, con un aumento pari al 10,9%. Sempre relativamente all'anno 2008, le percentuali di grasso e proteine sono pari al 3,68 e 3,37%, rispettivamente.

La situazione regionale della Sardegna si basa su 27.468 vacche in 238 allevamenti, con un numero di vacche per allevamento più elevato rispetto alla media nazionale, 115 contro 82. Tale discrepanza è ancora più evidente considerando i dati relativi alla Provincia di Oristano, che comprendendo il territorio comunale di Arborea, culla dell'allevamento bovino da latte sardo, concentra 21.035 vacche in 162 allevamenti, con una media di 130 vacche per allevamento. Questi dati rispecchiano la realtà isolana, che si basa su allevamenti che contano mediamente un numero più elevato di vacche per stalla.

Inoltre, dal confronto tra i dati del 1999 e quelli del 2008, è evidente che il comparto zootecnico della bovina da latte sta andando incontro a profondi mutamenti, sia a livello nazionale che regionale sardo. Infatti in Italia, nel decennio 1999-2008, sono scomparsi dal libro genealogico della Frisona Italiana circa 1600 allevamenti (15.194 contro 13.510, pari al 11,1%), mentre in Sardegna il dato è ancora più allarmante (303 contro 238, pari al 21,5%). Naturalmente, nello stesso periodo la consistenza media di vacche per allevamento è aumentata sia in Italia (82 contro 66) che in Sardegna (115 contro 94).

Questo fenomeno appena descritto per la razza Frisona Italiana rispecchia quanto accade nel comparto nazionale Italiano della

produzione del latte vaccino, ed è stato discusso nel paragrafo precedente.

L'esigenza di ottenere vacche più produttive ha portato ad una percentuale di consanguineità sempre più elevata, sia nella Frisona che nelle altre razze lattifere (Weigel 2001). Questo processo genetico, come confermato in precedenza dai dati relativi alle produzioni della Frisona Italiana nel decennio 1999-2008, ha consentito un aumento delle produzioni, ma parallelamente una disastrosa diminuzione delle prestazioni riproduttive (Pryce et al. 2004; Veerkamp e Beerd 2007). Il meccanismo che lega i due fenomeni non è ancora ben chiaro, ma è evidente che l'estremo aumento della produttività in un ridotto intervallo di tempo, ha portato al drastico decremento della fertilità nelle bovine (Roche et al. 2000).

Una delle teorie più accreditate riconduce la diminuita efficienza riproduttiva del post partum alla aumentata incidenza delle patologie condizionate, che a sua volta deriva da un prolungato stato negativo del bilancio energetico degli animali partorienti (Van Saun 1997).

In un review condotto negli anni '90, si dava rilievo al fatto che, in generale, la selezione genetica improntata al miglioramento delle produzioni lattee abbia mutato anche il profilo endocrino degli animali, per favorire la lattazione, ma probabilmente a spese dell'efficienza riproduttiva (Nebel e McGilliard 1993). Infatti, attualmente le bovine affrontano il post-partum con un bilancio energetico negativo e con un

particolare assetto endocrino che vede elevate concentrazioni di GH e diminuite di insulina e somatomedina I (insulin-like growth factor-I, IGF-I).

Questa situazione, che si è verificata nella moderna bovina lattifera, ha pregiudicato la corretta funzione ovarica e, ad esempio, nel Regno Unito la percentuale di successi alla prima fecondazione (First Service Conception Rate, FSCR) è passata dal 55,6 al 39,7% nell'intervallo di tempo 1975-1998 (Royal et al. 2000).

## **2. Scopo**



L'ipocalcemia e le patologie ad essa correlate sono molto diffuse nell'allevamento intensivo del bovino da latte. Alcuni autori segnalano che l'incidenza delle forme di ipocalcemia subclinica si verifica nel 5 - 10% di tutte le bovine da latte (El-Samad et al. 2002; Wilde 2006). Tale percentuale può essere straordinariamente più elevata, fino al 50%, nelle vacche oltre il terzo parto (Kamgarpour 1999).

Come detto, in queste situazioni i costi dei trattamenti farmaceutici, della mancata produzione e della diminuzione delle performance riproduttive sono superiori a quelli dei trattamenti preventivi (Gnemmi et al. 2005).

Nel corso della attività clinica di campo, sono state segnalate anche alcune soluzioni pratiche per la prevenzione di queste problematiche: una di queste consiste nella somministrazione a scopo preventivo (e cioè prima di una possibile diagnosi di ipocalcemia puerperale) di soluzioni endovenose a base di sali di calcio nelle ore successive al parto (Risco 2004), ma in letteratura non sono reperibili dati sperimentali che attestino l'efficacia del trattamento.

Lo scopo della presente tesi di dottorato è valutare, nell'allevamento intensivo della bovina da latte, l'efficacia della somministrazione di soluzioni endovenose a base di gluconato di calcio per la prevenzione delle disfunzioni riproduttive e metaboliche, al fine di assicurare una corretta ripresa nel post-partum.

La conoscenza di eventuali differenze permetterà di ricavare utili informazioni circa l'efficacia dei trattamenti farmaceutici a scopo profilattico nell'allevamento del bovino da latte, al fine di poter stabilire idonei programmi sanitari indirizzati al miglioramento della salute e del benessere animale.

### **3. Materiali e metodi**

La prova è stata condotta in un allevamento di bovine da latte di razza Frisona Italiana, localizzato nel Comune di San Vero Milis in Provincia di Oristano, nella costa ovest della Sardegna (40° 01' N, 8° 28'E). La consistenza media della mandria era pari ad un totale di circa 350 bovine, e 180 animali in mungitura.

A partire dal mese di ottobre 2007, 70 bovine pluripare con un'età compresa tra i 3 e i 7 anni e ordine di parto tra 2° e 5°, esenti da pregresse patologie di grave entità, sono state suddivise in due gruppi con il seguente metodo casuale. In base all'ordine di parto, al livello produttivo dell'ultima lattazione e al BCS registrato al momento del parto venivano formate repliche di due vacche ciascuna che venivano quindi suddivise nei due gruppi di trattamento con metodo randomizzato.

Le bovine del primo gruppo (gruppo T) sono state trattate entro 12 ore dal parto, con infusione endovenosa lenta alla vena giugulare di 250 mL di una soluzione contenente 50 g di gluconato di calcio (Glucalene<sup>®</sup>, CEVA VETEM SpA Agrate Brianza - MI). La soluzione utilizzata conteneva inoltre magnesio gluconato (5 g/100 mL), fosforilcolamina (5 g/100 mL) e cianocobalamina (3 g/100 mL). L'assenza di effetti collaterali sul sistema cardio-circolatorio dell'animale durante l'infusione endovenosa veniva monitorata attraverso l'auscultazione cardiaca.

Le bovine del secondo gruppo (gruppo C) sono state utilizzate come controllo e hanno ricevuto un infusione endovenosa di 250 mL di

soluzione fisiologica (0,9% NaCl).

Tutti gli animali della prova erano sottoposti a pari condizioni di gestione zootecnica. Le bovine erano tenute in stabulazione libera, sottoposte a mungitura meccanica due volte al giorno (alle ore 05:00 AM e 17:00 PM) e alimentate con una razione unifeed, le cui caratteristiche sono riportate nella Tabella 1.

Tabella 1A. Formula e analisi della razione unifeed somministrata alle bovine nella fase produttiva di inizio lattazione o “fresche”.

Fase 1: Vacche fresche, giorni in lattazione 1-100				
Ingrediente	Quantità			
	Kg	%		
Insilato di mais	24,000	58,337		
Farina di mais	4,800	11,667		
Fieno d'avena	4,700	11,424		
Soia farina d'estrazione 44%	3,900	9,480		
Farina d'orzo	3,000	7,292		
Integratori	0,600	1,458		
Urea	0,080	0,194		
Carbonato Ca	0,060	0,146		
<b>Totali</b>	<b>41,140</b>	<b>100,00</b>		
Sostanza secca (SS)	21,030	(Umidità 48,9%)		

Parametro	unità di misura	grammi/unità	%SS	% tal quale
UFL	N	20,72	98,54	50,37
PG	%	3322,70	15,80	8,08
FG	%	3632,70	17,27	8,83
NDF	%	7496,37	35,65	18,22
ADF	%	4271,58	20,31	10,38
amido	%	5585,56	26,56	13,58
metionina	mg	3300,00	156,92	80,21
Ca	%	168,26	0,80	0,41
P	%	80,36	0,38	0,20
foraggio	%	8359,50	39,75	20,32
concentrato	%	12670,32	60,25	30,80

UFL: unità foraggiere latte; PG: proteina greggia; FG: fibra greggia; NDF: fibra neutro detersa; ADF: fibra acido detersa.

Tabella 1B. Formula e analisi della razione unifeed somministrata alle bovine nella fase produttiva di picco e termine lattazione o “avanti”.

Ingrediente	Quantità	
	Kg	%
Insilato di mais	24,000	57,873
Fieno d’avena	6,700	16,156
Farina di mais	4,800	11,575
Soia farina d’estrazione 44%	3,400	8,199
Farina d’orzo	2,200	5,305
Integratori	0,300	0,723
Urea	0,070	0,169
<b>Totali</b>	<b>41,470</b>	<b>100,00</b>
Sostanza secca (SS)	21,307	(Umidità 48,6%)

parametro	unità di misura	grammi/unità	%SS	% tal quale
UFL	N	19,76	92,73	47,65
PG	%	3105,16	14,57	7,49
FG	%	4117,42	19,32	9,93
NDF	%	8382,48	39,34	20,21
ADF	%	4817,72	22,61	11,62
amido	%	5221,34	24,51	12,59
metionina	mg	1800,00	84,48	43,40
Ca	%	127,46	0,60	0,31
P	%	80,18	0,38	0,19
foraggio	%	10129,50	47,54	24,43
concentrato	%	11177,43	53,46	26,95

UFL: unità foraggiere latte; PG: proteina greggia; FG: fibra greggia; NDF: fibra neutro detersa; ADF: fibra acido detersa.

Tabella 1C. Formula e analisi della razione unifeed somministrata alle bovine nelle fasi di asciutta e *steaming up*.

Fase 3: Vacche in asciutta, giorni 1-40	
Ingrediente	Quantità
Fieno d’avena	Ad libitum
Razione vacche “avanti”	5,000 Kg
Fase 4: <i>Steaming up</i> , giorni 41-60	
Ingrediente	Quantità
Fieno d’avena	Ad libitum
Razione vacche “fresche”	10,000 Kg
Integratore sali anionici	0,200 Kg

Tutti i dati relativi alla ricerca venivano registrati in una scheda, che era individuale per ogni animale (Figura 6A e 6B).

CODICE AZIENDALE		CODICE DPR 317/96			
GRUPPO T=TRATTAMENTO Ca GLUCONATO C=CONTROLLO			T	C	
ANNO DI NASCITA		ORDINE DI PARTO		DATA PARTO	
PRODUZIONE ULTIMA LATTAZIONE (kg)					
BCS PARTO					
BHB 7 gg					
ESAME ECOGRAFICO UTERO/OVAIO					
DATA	DIAMETRO CORNO UTERINO		CICLICITÀ OVAIO CORPO LUTEO-FOLLICOLO	NOTE	
	DX	SX			
15 gg					
21 gg					
30 gg					
45 gg					
DATA					
	15 gg	21 gg	30 gg	45 gg	60 gg
BCS					

Figura 6A. Pagina 1 della scheda individuale per la rilevazione dei dati.

Per ogni bovina veniva registrato l'anno di nascita, l'ordine e la data del parto e la produzione dell'ultima lattazione misurata in Kg.





Il BCS è stato registrato secondo il metodo di Edmonson et al. (1989) (Figura 7).

PUNTEGGIO	PROCESSI SPINOSI (SP)	AREA COMPRESA TRA SPINOSI E TRASVERSARI	PROCESSI TRASVERSARI (TP)	PIANO SPORGENTE (attenzione al riferimento nominale)	ISCHI E ILEI	AREA TRA ISCHI E ILEI	AREA TRA GLI ILEI	ATTACCO DELLA CODA E ISCHI
MAGREZZA GRAVE (EMACIATO)	1.00 singoli processi distinti, aspetto a "denti di sega"	profonda depressione	molto sporgenti visibili > 1/2 in lunghezza	sporgenza definita, magra e rientrante	estremamente affilati, nessun tessuto di copertura	forte depressione, privo di muscolatura	fortemente depressa	ossa molto prominenti, con una profonda cavità a forma di "V" sotto la coda
1.25								
1.50								
1.75								
OSSATURA EVIDENTE	2.00 singoli processi evidenti	evidente depressione	1/2 lunghezza dei processi visibile	sporgenza prominente	prominenti	molto incavato		ossa prominenti cavità a forma di "U" sotto la coda
2.25			tra 1/3 e 1/2 dei processi visibile			leggera copertura muscolare		principio di evidenza di grasso
2.50	cresta prominente e affilata	uniforme curva concava	tra 1/3 e 1/4 visibile	sporgenza moderata	piana	depressione		prominenze ossee piane, cavità sotto la coda poco profonda e ripiena di tessuto adiposo
2.75			< 1/4 visibile			leggera depressione		
OSSATURA E COPERTURA BEN BILANCIATE	3.00 cresta piana SP non evidenti	inclinazione uniforme	superficie piana TP appena distinguibili	sporgenza lieve	coperta			
3.25			cresta unica, nessun singolo processo distinguibile					
3.50			marginie dolcemente arrotondate	nessuna sporgenza	arrotondata con grasso			
3.75								
COPERTURA PIU' VISIBILE DELL'OSSATURA	4.00 superficie piana nessun processo distinguibili	quasi piatto	marginie appena riconoscibili			inclinato		prominenze ossee arrotondate dai depositi di grasso, depressione sotto la coda quasi piena di grasso
4.25						piano		
4.50								
4.75								
OBBESITA' GRAVE	5.00 nascosti nel grasso	arrotondato (convesso)	nascosti nel grasso	rigonfiato	nascosta nel grasso	arrotondato	arrotondata	ossa nascoste nel grasso, cavità ripiena di grasso con pieghe del tessuto

Figura 7. Schema di valutazione del body condition score per le bovine di razza frisona (modificato da Edmonson et al. 1989).

Stefano Bua, Effetto di una soluzione endovenosa a base di calcio gluconato nel post partum di bovine da latte ad alta produzione, Tesi di dottorato in Riproduzione, produzione, benessere animale e sicurezza degli alimenti di origine animale, Università degli Studi di Sassari

Il BCS veniva misurato il giorno del parto e 15, 21, 30, 45 e 60 giorni (g15, g21, g30, g45 e g60) dopo il parto.

Sette giorni dopo il parto si è proceduto alla misurazione dei livelli ematici dei corpi chetonici, tramite il dosaggio del  $\beta$ -idrossibutirrato (BHB). Veniva impiegato il misuratore automatico digitale Optium Xceed™ e le strisce Optium  $\beta$ -chetone™ (Abbott Laboratories, Abbott Park, Illinois, U.S.A.). Il sangue veniva prelevato sterilmente dalla vena coccigea e la concentrazione era espressa in mmol/L.

In concomitanza della registrazione del punteggio del BCS veniva effettuato un esame ultrasonografico transrettale dell'apparato riproduttore. Per tale indagine si utilizzava un apparecchio ecografico Esaote Piemedical Tringa® (Esaote Europe B.V., Maastricht, Paesi Bassi) munito di sonda lineare a frequenza multipla 5.0 – 7.5 MHz. A g15 e g30 si è proceduto alla valutazione del diametro di entrambe le corna uterine destra e sinistra, misurate a livello del terzo medio. A g15, g21, g30 e g45, si effettuava l'osservazione delle due ovaie per la registrazione della presenza di nuovi follicoli dominanti con un diametro superiore agli 8 mm e di eventuali corpi lutei.

Sono stati poi registrati la data e il numero degli interventi fecondativi, la data e la positività o negatività delle diagnosi di gravidanza. Da questi venivano calcolati il numero di fecondazioni necessarie per una nuova gravidanza e la percentuale di concepimenti

alla prima fecondazione (*first service conception rate*, FSCR).

Inoltre, si annotava la diagnosi di ogni forma morbosa a carico della funzionalità dell'apparato genitale e dell'omeostasi metabolica, gli eventuali interventi curativi, il tipo e la quantità di ogni farmaco somministrato. Il costo di questi interventi è stato calcolato in base al prezzo massimo di vendita al pubblico (art. 14, DM 24.02.97 n. 47) riportato sulle confezioni dei farmaci e aggiornato al 31 dicembre 2008.

I dati ottenuti sono stati sottoposti ad analisi statistica usando il software R (R Development Core Team, 2008). L'analisi della varianza (ANOVA) è stata utilizzata per il confronto dei risultati relativi all'età, all'ordine di parto, al BCS, al diametro delle corna uterine, al tasso di beta-idrossi-butirrato (BHB), al numero di fecondazioni, all'intervallo parto-concepimento e al costo dei trattamenti farmacologici. Il test del chi-quadrato ( $\chi^2$ ) e il test esatto di Fisher sono stati impiegati per confrontare il FSCR e il numero delle bovine cicliche nei due gruppi.

## 4. Risultati

Nella Tabella 2 sono riportati i dati relativi all'età, all'ordine di parto, al BCS delle bovine al momento del parto e alla produzione dell'ultima lattazione. L'analisi della varianza non ha evidenziato nessuna differenza nei tre parametri analizzati. In particolare, tale confronto è risultato utile per confermare che i due gruppi in oggetto risultassero omogenei.

Tabella 2. Media e deviazione standard dell'età, dell'ordine di parto, del body condition score (BCS) al momento del parto e delle produzioni di latte delle bovine dei due gruppi.

parametro	Gruppo		Livello di significatività
	T (n = 35)	C (n = 35)	
Età (anni)	4,21 ±1,75	4,38 ±1,56	NS
Ordine di parto	2,92 ±1,68	2,91 ±1,41	NS
BCS	3,06 ±0,22	3,09 ±0,19	NS
Produzione ultima lattazione (Kg)	8980 ±780	9390 ±930	NS

Gruppo T: trattamento con 250 mL soluzione a base di Ca gluconato

Gruppo C: gruppo di controllo

Livello di significatività: NS = non significativo

Dalla tabella 3, dove è riassunto l'andamento del BCS durante tutta la prova, risulta evidente che, per quanto riguarda lo stato nutrizionale degli animali, non vi è stata nessuna differenza significativa tra i due gruppi da 15 a 60 giorni dopo il parto.

Tabella 3. Media e deviazione standard del body condition score (BCS) delle bovine dei due gruppi durante la prova.

Giorni dal parto	Gruppo		Livello di significatività
	T (n = 35)	C (n = 35)	
15	2,97 ±0,22	3,00 ±0,17	NS
21	2,87 ±0,21	2,90 ±0,12	NS
30	2,79 ±0,21	2,83 ±0,16	NS
45	2,66 ±0,12	2,71 ±0,14	NS
60	2,50 ±0,12	2,62 ±0,18	NS

Gruppo T: trattamento con 250 mL soluzione a base di Ca gluconato

Gruppo C: gruppo di controllo

Livello di significatività: NS = non significativo

Nella tabella 4 sono riportati i risultati riguardanti la misurazione del diametro delle corna uterine a g15 e g30. La differenza tra i due gruppi è sempre stata significativa, e il gruppo T mostrava sempre un diametro minore. Il valore statistico più elevato ( $P < 0,01$ ) è stato registrato, sempre per il corno sinistro, a g15 ( $5,81 \pm 2,46$  per il gruppo T e  $7,84 \pm 3,08$  per il gruppo C) e a g30 ( $3,76 \pm 0,89$  per il gruppo T e  $4,73 \pm 1,68$  per il gruppo C). Per il corno destro, le differenze tra i due gruppi erano significative per  $P < 0,05$ .

Tabella 4. Media e deviazione standard del diametro (cm) delle corna uterine delle bovine dei due gruppi durante la prova.

Giorni dal parto	Corno uterino	Gruppo		Livello di significatività
		T (n = 35)	C (n = 35)	
15	DX	6,02 <sup>a</sup> ±2,44	7,32 <sup>b</sup> ±2,35	*
	SX	5,81 <sup>A</sup> ±2,46	7,84 <sup>B</sup> ±3,08	**
30	DX	3,77 <sup>a</sup> ±0,81	4,33 <sup>b</sup> ±1,09	*
	SX	3,76 <sup>A</sup> ±0,89	4,73 <sup>B</sup> ±1,68	**

Gruppo T: trattamento con 250 mL soluzione a base di Ca gluconato

Gruppo C: gruppo di controllo

<sup>a, b</sup> Medie nella stessa riga con diverse lettere minuscole sono significativamente differenti per  $P < 0.05$

<sup>A, B</sup> Medie nella stessa riga con diverse lettere maiuscole sono significativamente differenti per  $P < 0.01$

Livello di significatività: \* =  $P < 0,05$ ; \*\* =  $P < 0,01$ .

Il numero delle bovine cicliche nei due gruppi è riportato in tabella 5. Nel gruppo T si è registrato un maggiore numero di bovine cicliche sia a g15 che a g21 (9 contro 2 e 10 contro 4, rispettivamente), mentre quelle del gruppo C hanno manifestato in ritardo la ripresa dell'attività riproduttiva post partum con un maggior numero di bovine cicliche nelle registrazioni effettuate 30 e 45 giorni dopo il parto. Il test esatto di Fisher ha confermato un alto valore statistico di questi ultimi risultati ( $P < 0,01$ ).

Nella tabella 6 sono riassunti i risultati relativi alla percentuale di gravidanze alla prima fecondazione (*first service conception rate, FSCR*).

In entrambi i gruppi sono stati registrate percentuali molto simili e il test statistico non ha rilevato alcuna differenza.

Tabella 5 Numero delle bovine cicliche dei due gruppi durante la prova.

Giorni dal parto	Gruppo	
	T (n = 35)	C (n = 35)
15	9	2
21	10	4
30	13	18
45	3	11

Gruppo T: trattamento con 250 mL soluzione a base di Ca gluconato

Gruppo C: gruppo di controllo

Test esatto di Fisher  $P < 0.01$

Tabella 6. Numero e percentuale di gravidanze alla prima fecondazione nei due gruppi.

Gruppo			
T (n = 35)		C (n = 35)	
n	%	n	%
16	45,7	14	40

Gruppo T: trattamento con 250 mL soluzione a base di Ca gluconato

Gruppo C: gruppo di controllo

Test Chi-quadro non significativo  $P = 0.629$

I dati relativi al numero delle fecondazioni necessarie per una nuova gravidanza e dell'intervallo parto concepimento (*open days*) sono



illustrati nella tabella 7. Il numero medio di fecondazioni era pari a 2,18 per il gruppo T e 2,63 per il gruppo C, mentre l'intervallo parto concepimento variava tra una media di 152 giorni per le bovine del gruppo C e 160 per quelle del gruppo T. Per entrambi i parametri non è stata rilevata alcuna differenza statistica tra i due gruppi.

Tabella 7 Media e deviazione standard del numero delle fecondazioni necessarie per una nuova gravidanza e dell'intervallo parto concepimento nei due gruppi.

	Gruppo		Livello di significatività
	T (n = 35)	C (n = 35)	
fecondazioni per gravidanza (n)	2,18 ±1,37	2,63 ±1,70	NS
intervallo parto-concepimento (giorni)	160,48 ±50,95	152,48 ±51,20	NS

Gruppo T: trattamento con 250 mL soluzione a base di Ca gluconato

Gruppo C: gruppo di controllo

Livello di significatività: NS = non significativo.

Nella tabella 8 sono riassunti i dati della misurazione del BHB e del costo dei trattamenti. Il livello ematico dei corpi chetonici non ha mostrato differenze significative con uno scarto minimo tra le due medie (0,71 per il gruppo T e 0,75 per il gruppo C). Anche per l'ultimo parametro non è stata registrata differenza statisticamente significativa, nonostante nel gruppo T la spesa sanitaria fosse in media inferiore di circa 16 € (23,45€ per il gruppo T e 39,16 € per il gruppo C).

Tabella 8 Media e deviazione standard della chetonemia (BHB) a 7 giorni dal parto e del costo dei trattamenti delle bovine dei due gruppi.

	Gruppo		Livello di significatività
	T (n = 35)	C (n = 35)	
BHB (mmol/L)	0,71 ±0,33	0,75 ±0,45	NS
Costo trattamenti (€)	23,45 ±22,63	39,16 ±38,99	NS

Gruppo T: trattamento con 250 mL soluzione a base di Ca gluconato

Gruppo C: gruppo di controllo

Livello di significatività: NS = non significativo.

## **5. Discussione**

Come già accennato in precedenza, i due gruppi si presentavano omogenei nella composizione poiché al momento del parto, e quindi al momento dell'assegnazione delle bovine a uno o all'altro gruppo, non vi erano differenze significative per età, ordine di parto, stato nutrizionale misurato con il BCS e livello produttivo.

Ciò ci ha consentito di ridurre in maniera efficace le possibili influenze di questi tre parametri sui dati ottenuti dal monitoraggio della funzionalità riproduttiva e metabolica delle bovine.

In particolare i valori del BCS nei due gruppi al momento del parto sono analoghi a quelli risultanti da altre ricerche condotte su bovine di razza Frisona del ceppo Italiano (Sabbioni et al. 1998) e Americano (Clark et al. 2005) e rientrano nell'intervallo fra 3,0 e 3,25 suggerito come ottimale da alcuni Autori (Melendez e Risco 2005).

Anche la diminuzione del BCS durante tutta la prova, e in particolare la differenza tra i valori medi del giorno del parto e quelli registrati 60 giorni dopo, non hanno superato il valore soglia di 1 punto di BCS, che viene indicato come il limite massimo oltre il quale si può registrare una grave compromissione della fertilità dell'animale (Risco 2004; Melendez e Risco 2005).

Nel complesso non è stata registrata nessuna differenza tra i due gruppi che per tutta la durata della prova hanno mostrato accettabili valori di BCS nella curva discendente della condizione nutrizionale registrabile durante la prima fase di lattazione, quando le richieste

energetiche necessarie per la galattopoiesi spesso sopravanzano quelle fornite dalla razione, e l'animale deve far fronte a questo divario attraverso la mobilitazione dei grassi di deposito (Kadokawa e Martin 2006).

Anche il livello ematico dei corpi chetonici non è stato influenzato dal trattamento in accordo con quanto rilevato da Melendez et al. (2002) in una prova clinica con diversi presidi a base di sali di calcio somministrati per via orale o endovenosa. Nel complesso le bovine di entrambi i gruppi utilizzati nella prova hanno manifestato dei valori medi piuttosto bassi.

Alcuni Autori suggeriscono un sospetto di iperchetonemia quando si sorpassa il valore soglia delle 0,40 mmol/ml, anche se il rallentamento della ripresa riproduttiva avviene solamente oltre le 2,00 mmol/ml (Andersson et al. 1991). Questa ipotesi è stata confermata nella presente ricerca dal raro sospetto di forme subcliniche e dall'assenza di qualsiasi sintomo clinico di chetosi durante le visite effettuate in concomitanza dei rilievi. È quindi evidente che il trattamento non ha influenzato lo stato nutrizionale degli animali. Molto probabilmente questo risultato è dovuto al fatto che nelle varie fasi produttive, si attuava una attenta ed efficace gestione della formulazione delle razioni energetiche (Melendez et al. 2002).

L'effetto positivo del trattamento è risultato invece evidente sui parametri riproduttivi che sono stati monitorati ecograficamente. Infatti il

diametro delle corna uterine, che può essere considerato un criterio utile di valutazione della funzionalità uterina dopo il parto, è diminuito più rapidamente nel gruppo delle bovine trattate.

Questo dato dipende dalla funzione che il calcio esercita sulla muscolatura sia liscia che striata (Sherwood et al. 2006). Infatti, i numerosi studi in fisiologia e patologia animale hanno chiarito il ruolo di questo elemento (El-Samad et al. 2002; Dirksen et al. 2004), e più di recente nuove ricerche scientifiche condotte in campo buiatico hanno evidenziato che il corretto controllo dell'integrazione dei sali di calcio nella dieta, oltre al collasso puerperale, può prevenire anche numerose altre patologie negli organi con una componente muscolare liscia, come la dislocazione dell'abomaso e le metriti (Melendez e Risco 2005; Goff 2008). Per quanto riguarda la misurazione metrica delle corna uterine, sono stati registrati risultati simili da Risco et al. (1994) in un confronto tra bovine che manifestavano febbre puerperale e bovine sane di controllo.

Nella presente prova una più rapida involuzione uterina ha influito anche sulla ripresa dei cicli estrali nel periodo post partum. Infatti, nelle bovine che avevano ricevuto il trattamento, il riconoscimento di follicoli o corpi lutei, attraverso l'esame ecografico, è avvenuto con maggiore frequenza entro il trentesimo giorno dal parto e già tre settimane dopo il parto più della metà degli animali (19 su 35) risultavano ciclici. Al contrario, nel gruppo di controllo le frequenze

massime si sono registrate a partire dal rilievo effettuato un mese dopo il parto. Il ritardo dell'involuzione uterina e della ripresa dell'attività ovarica nel gruppo di controllo è in accordo con quanto riportato in passato da altri autori per bovine da latte con febbre puerperale (Fonseca et al. 1983; Risco et al. 1994) o con ipocalcemia subclinica (Kamgarpour et al. 1999).

Quest'ultimo risultato può essere imputato alla complessa regolazione dei fenomeni fisiologici che si svolgono nelle ovaie nel post partum. Più in particolare la crescita di nuovi follicoli antrali e del successivo corpo luteo è vincolata principalmente al corretto funzionamento dell'asse ipotalamo-ipofisi-ovaio e una corretta ripresa della funzionalità uterina può influire significativamente sulla ripresa dell'attività ciclica. Il messaggero ormonale implicato in tale meccanismo è stato individuato nella prostaglandina  $F2\alpha$  e nelle molecole analoghe (Guibault et al. 1987a; Guibault et al. 1987b), che vengono secrete in elevate concentrazioni dall'utero nel periodo dell'involuzione puerperale per essere convogliate, attraverso il circolo sanguigno, alle ovaie (Guibault et al. 1984).

Tale beneficio non ha però influito sulla percentuale di successi alla prima fecondazione (FSCR), sul numero di fecondazioni necessarie per una nuova gravidanza e sull'intervallo parto-concepimento.

Infatti, nel gruppo di bovine trattate e in quello di controllo, per il FSCR, si registravano delle percentuali molto simili (45,7 per il gruppo T e 40% per quello C).

Questi dati sono sovrapponibili a quelli registrati, con le stesse condizioni d'allevamento, in uno studio pubblicato da Pazzola et al. (2007) quando il FSCR aveva dei valori variabili tra 65,4% in autunno, 16.1% in primavera, 36.7% in estate e 25.8% in autunno, e sono migliori rispetto a quanto rilevato da Royal et al. (2000) nel Regno Unito, dove la FSCR è passata dal 55,6 al 39,7% nell'intervallo di tempo 1975-1998.

Inoltre, seppure nel gruppo di controllo siano state necessarie in media circa 2,63 fecondazioni per conseguire la diagnosi ecografica di gravidanza, contro le 2,18 del gruppo trattato, e l'intervallo parto-concepimento avesse dei valori medi di 152 giorni per il gruppo di controllo e 160 per quello trattato, la differenza tra i due gruppi non è risultata statisticamente significativa. Questi dati sono in accordo con quanto rilevato da Pazzola et al. (2007), che registrarono un numero medio di fecondazioni per gravidanza pari a 2,55, con un massimo di 3,50 durante l'inverno e 1,46 per l'autunno.

In generale, i risultati relativi alle performance riproduttive delle bovine, sia nel gruppo che ha ricevuto il trattamento che in quello di controllo, si discostano da quanto affermato nel paragrafo introduttivo, ossia sulla correlazione negativa tra performance riproduttive e produttive. Infatti, poiché le bovine dei due gruppi avevano delle



produzioni medie del tutto sovrapponibili a quelle di vacche pluripare di razza Frisona Italiana allevate in Sardegna (Associazione Italiana Allevatori, 2009), possiamo quindi assumere che queste fossero degli animali da latte ad alta produzione. Al contrario di quanto ci si poteva attendere, le prestazioni riproduttive misurate nella presente ricerca sono state superiori a quelle registrate da altri autori (Royal et al. 2000). È quindi evidente che nella azienda dove erano allevate le bovine, una corretta gestione aziendale, che si ricava ad esempio dai dati relativi al monitoraggio del BCS e della chetonemia, abbia limitato i problemi riproduttivi che sono in genere legati a prestazioni produttive massime.

Anche l'elaborazione statistica dei dati relativi ad eventuali interventi farmacologici ed al loro costo non ha mostrato nessuna differenza significativa.

Questo riscontro merita però una particolare considerazione. Infatti, anche se i parametri esposti possono essere considerati indicativi sia di una buona funzionalità metabolica e di una valida funzionalità riproduttiva, è doveroso segnalare che necessitano di ripetute misurazioni da parte del Medico Veterinario. Al contrario la misura dei costi per interventi farmacologici pro capite, o in generale su un'intera mandria, fornisce rilievi più immediati e semplici. Tale approccio fornisce, inoltre, una lettura diretta dello stato di salute dell'animale e della stalla, e l'immediatezza del risultato può spingere gli allevatori a ricercare il conseguimento di migliori performances produttive e riproduttive.

## **6. Conclusioni**

I risultati ottenuti dimostrano che, nel post partum delle bovine da latte ad alta produzione, il trattamento a scopo profilattico con soluzioni a base di gluconato di calcio può essere una delle soluzioni per migliorare le performance riproduttive.

Questo miglioramento passa obbligatoriamente attraverso la prevenzione delle patologie della bovina partorientente, che derivano dalla forte relazione tra il periodo di bilancio energetico negativo del post partum, la fase ascendente della lattazione e l'elevata selezione genetica.

In particolare, in questo studio, si è osservata una favorevole evoluzione dei meccanismi fisiologici necessari alla ripresa ciclica dopo il periodo anaestrale gravidico, come ad esempio una maggiore rapidità dell'evoluzione uterina e dello sviluppo di follicoli ovarici.

Al contrario il trattamento non ha influito sul bilancio energetico misurato con il BCS, sulla concentrazione dei corpi chetonici, sull'intervallo parto concepimento, sulla percentuale di successi fecondativi al primo intervento e sul numero di fecondazioni necessarie per una diagnosi positiva di gravidanza.

In conclusione, poiché l'incidenza delle forme di ipocalcemia subclinica si verifica nel 5 - 10% di tutte le bovine da latte, la somministrazione delle soluzioni endovenose di calcio-gluconato può rappresentare un valido approccio nella prevenzione di questa patologia e delle patologie ad essa correlate.

## 7. Bibliografia

Stefano Bua, Effetto di una soluzione endovenosa a base di calcio gluconato nel post partum di bovine da latte ad alta produzione, Tesi di dottorato in Riproduzione, produzione, benessere animale e sicurezza degli alimenti di origine animale, Università degli Studi di Sassari

- Aguggini G.**, Beghelli V., Giulio L.F. 1992. Fisiologia degli animali domestici con elementi di etologia. UTET, Torino.
- Associazione Italiana Allevatori (AIA)** 2009. Online: <http://www.aia.it/bollettino/bollettino.htm>.
- ANAFI** 2009. Online: <http://www.anafi.it/Index.htm>
- Andersson L.**, Gustafsson A.H., Emanuelson U. 1991. Effect of hyperketonaemia and feeding on fertility in dairy cows. *Theriogenology*, 36, 521–536.
- Arthur G.H.** 1980. Ostetricia e riproduzione degli animali domestici. Editoriale Grasso, Bologna.
- Assonapa** 2009. Online: <http://www.assonapa.it>
- Bauman D.E.**, Currie W.B. 1980. Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: a review of mechanism involving homeostasis and homeorhesis. *Journal of Dairy Science* 63, 1514–1529.
- DeGaris P.J.**, Lean I.J. 2008. Milk fever in dairy cows: A review of pathophysiology and control principles. *The Veterinary Journal* 176, 58–69.
- Clark C.E.F.**, Fulkerson W.J., Nandra K.S., Barchia I., Macmillan K.L. 2005. The use of indicators to assess the degree of mobilisation of body reserves in dairy cows in early lactation on a pasture-based diet. *Livestock Production Science* 94, 199–211.
- Cristori F.**, Aria G. 1979. Lezioni di ostetricia veterinaria. Editrice

Esculapio, Bologna.

- Crowe** M.A. 2008. Resumption of ovarian cyclicity in post-partum beef and dairy cows. *Reproduction in Domestic Animals* 43, 20–28.
- Dhaliwal** G.S., Murray R.D., Dobson H. 1996. Effects of milk yield, and calving to first service interval, in determining herd fertility in dairy cows. *Animal Reproduction Science* 41, 109– 117.
- Dirksen** G., Gründer H.D., Stöber M. 2004. *Medicina interna e chirurgia del bovino*. Point veterinarie Italie, Milano.
- Dohoo** I.R., Martin S.W., McMillan I., Kennedy B.W. 1984. Disease, production and culling in Holstein-Friesian cows: Part ii, Age, season and sire effects. *Preventative Veterinary Medicine* 2, 655–670.
- Edmonson** A. J., Lean I. J., Weaver L. D., Farver T., Webster G. 1989. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science* 72, 68-78.
- El-Samad** H., Goff J.P., Khammash M. 2002. Calcium homeostasis and parturient hypocalcemia: an integral feedback perspective. *Journal of Theoretical Biology* 214, 17–29.
- Felius** M. 1985. *Cattle breeds of the World*. MSD AGVET Publishing, Rahway, NJ, USA.
- Fricke** P.M. 2002. Scanning the future-ultrasonography as a reproductive management tool for dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 85, 1918–1926.

- Fricke** P.M., Lamb G.C. 2005. Potential applications and pitfalls of reproductive ultrasonography in bovine practice. *Veterinary Clinics Food Animal Practice* 21, 419–436.
- Fonseca** F.A., Britt J.H., McDaniel B.T., Wilk J.C., Rakes A.H. 1983. Reproductive traits of Holsteins and Jerseys. Effects of age, milk yield, and clinical abnormalities on involution of cervix and uterus, ovulation, estrous cycles, detection of estrus, conception rate, and days open. *Journal of Dairy Science* 66, 1128–1147.
- Fusco** R. 1990. *La Frisone Italiana*. ANAFI EdAgricole, Bologna
- Ginther** O.J. 1986. Ultrasonic imaging and reproductive event in the mare. *Equiservices, Inc, Cross Plains (WI)*, p. 1–12.
- Gnemmi** C. 1999. *Ultrasonografia ginecologica in buiatria*. 1. Valutazioni economiche nell'allevamento del bovino da latte. *Summa* 8, 59–62.
- Gnemmi** C. 2000. *Ultrasonografia ginecologica in buiatria*. 2. Applicazioni di campo nell'allevamento del bovino da latte. *Summa* 1, 61–67.
- Gnemmi** C. 2001. Analisi economica dell'uso dell'ecografia in ginecologia buiatria. *Summa* 6, 61–64.
- Gnemmi** C., Maraboli C., Casalone M., Moroni P. 2005. Gestione riproduttiva: approccio di campo. *Summa* 5, 11–20.

- Goff J. P.**, Horst R. L., Jardon P. W., Borelli C., Wedam J. 1996. Field trials of oral calcium propionate as an aid to prevent milk fever in preparturient dairy cows. *Journal of Dairy Science* 3, 378–383.
- Goff J.P.**, Horst R.L. 1997. Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. *Journal of Dairy Science* 80, 1260–1268.
- Goff J.P.** 2008. The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. *Veterinary Journal* 176, 50–57.
- Grant R.J.**, Albright J.L. 1995. Feeding behaviour and management factors during the transition period in dairy cattle. *Journal of Animal Science* 73, 2791–2803.
- Grummer R.R.** 1993. Etiology of lipid-related metabolic disorders in periparturient dairy cows. *Journal of Dairy Science* 76, 3882–3896.
- Guard C.** 1996. Fresh cow problems are costly: culling hurts the most. Page 100 in *Proceedings of the 1994 Annual Conference of Veterinarians*, Cornell University, Ithaca, NY.
- Guilbault L.A.**, Thatcher W.W., Drost M., Hopkins S.M. 1984. Source of F series prostaglandins during the early postpartum period in cattle. *Biology of Reproduction* 31, 879–887.
- Guilbault L.A.**, Thatcher W.W., Drost M., Haibel G. K. 1987a. Influence of a physiological infusion of prostaglandin F<sub>2α</sub> into



- postpartum cows with partially suppressed endogenous production of prostaglandins. 1. Uterine and ovarian morphological responses. *Theriogenology* 27, 931–946.
- Guilbault** L.A., Thatcher W.W., Wilcox C.J. 1987b. Influence of a physiological infusion of prostaglandin F2 $\alpha$  into postpartum cows with partially suppressed endogenous production of prostaglandins. 2. Interrelationships of hormonal, ovarian and uterine responses. *Theriogenology* 27, 947–957.
- Hady** P.J., Domecq J.J., Kaneene J.B. 1994. Frequency and precision of body condition scoring in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 77, 1543–1547.
- Harris** D.J. 1981. Factors predisposing to parturient paresis. *Australian Veterinary Journal* 57, 357–361.
- Heuer** C., Schukken Y.H., Dobbelaar P. 1999. Postpartum body condition score and results from the first test day milk as predictors of disease, fertility, yield and culling in commercial dairy herds. *Journal of Dairy Science* 82, 295–304.
- Horst** R.L., DeLuca H.F., Jorgensen N.A. 1978. The effect of age on calcium absorption and accumulation of 1,25-dihydroxyvitamin D3 in intestinal mucosa of rats. *Metabolic Bone Disease and Related Research* 1, 29–33.

- Horst** R.L., Goff J.P., Reinhard T.A. 1990. Advancing age results in reduction of intestinal and bone 1,25-dihydroxyvitamin D receptor. *Endocrinology* 126, 1053–1057.
- Horst** R.L., Goff J.P., Reinhardt T.A., Buxton D.R. 1997. Strategies for preventing milk fever in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 80, 1269–1280.
- IZSA&M** 2009. Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell’Abruzzo e del Molise “G. Caporale” (2008): Online <http://www.izs.it/it/anagrafe-zootecnica/anagrafe-zootecnica-intro.html>
- Kadokawa** H., Martin B.G. 2006. A new perspective on management of reproduction in dairy cows: the need for detailed metabolic information, an improved selection index and extended lactation, *Journal of Reproduction and Development* 52, 161–168.
- Kamgarpour** R., Daniel R.C.W., Fenwick D.C., McGuigan K., Murphy G. 1999. Post partum subclinical hypocalcaemia and effects on ovarian function and uterine involution in a dairy herd. *Veterinary Journal* 158, 59–67.
- Latte Arborea** 2009. Online: <http://www.lattearborea.com/>
- Lucy** M.C., Staples C.R., Michel F.M., Thatcher W.W. 1991. Energy balance and size and number of ovarian follicles detected by ultrasonography in early postpartum dairy cows. *Journal of Dairy Science* 74, 473–482.

- Meadows C.** 2005. Reproductive Record Analysis. *Veterinary Clinics Food Animal Practice* 21, 305–323.
- Mee J.F.** 2008. Prevalence and risk factors for dystocia in dairy cattle: a review. *The Veterinary Journal* 176, 93–101.
- Melendez P., Donovan A., Risco C.A., Hall M.B., Littell R., Goff J.** 2002. Metabolic responses of transition Holstein cows fed anionic salts and supplemented at calving with calcium and energy. *Journal of Dairy Science* 85, 1085–1092.
- Melendez P., Risco C.A.** 2005. Management of transition cows to optimize reproductive efficiency in dairy herds. *Veterinary Clinics of North America-Food Animal Practice* 21, 485–501.
- Miyamoto A., Shirasuna K., Hayashi K., Kamada D., Awashima C., Kaneko E., Acosta T.J., Matsui M.** 2006. A potential use of color ultrasound as a tool for reproductive management: new observations using color ultrasound scanning that were not possible with imaging only in black and white. *Journal of Reproduction and Development* 52, 153–160.
- Monetti P.G.** 1998. *Appunti di bovinicoltura*. Cristiano Giraldi Editore, Ozzano dell'Emilia (BO).
- Mulligan F.J., Doherty M.L.** 2008. Production diseases of the transition cow. *The Veterinary Journal* 176, 3–9.

- Nebel** R.L., McGilliard M.L. 1993. Interactions of high milk yield and reproductive performance in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 76, 3257-3268
- Norman** H.D., van Vleck L.D. 1972. Type appraisal: Part ii. variation in type traits due to sires, herds and years. *Journal of Dairy Science* 55, 1717–1725.
- Oetzel** G.R., Goff J.P. 1999. Current veterinary therapy 4: metabolic disease. p 215.
- Opsomer** G., Coryn M., Deluyker H., de Kruif A. 1998. An analysis of ovarian dysfunction in high yielding dairy cows after calving based on progesterone profiles. *Reproduction in Domestic Animals* 33, 193–204.
- Payne** J.M. 1977. Parturient paresis. In: *Metabolic diseases in farm animals*. Heinemann Medical Books, London, UK, pp. 61–83.
- Pazzola** M., Carcangiu V., Vacca G.M., Bua S., Mura M.C., Dettori M.L., Bini P.P. 2007. Seasonal-climate effects on reproductive function in dairy cows reared in Sardinia. *Reproduction in Domestic Animals* 42 suppl. 2, 119.
- Pehrson** B., Svensson C., Jonsson M. 1998. A comparative study of the effectiveness of calcium propionate and calcium chloride for the prevention of parturient paresis in dairy cows, *Journal of Dairy Science* 81, 2011–2016.

- Pryce** J.E., Royal M.D., Garnsworthy P.C., Mao I.L. 2004. Fertility in the high-producing dairy cow. *Livestock Production Science* 86, 125–135.
- Ramberg** C.F., Johnson E.K., Fargo R.D., Kronfeld D.S. 1984. Calcium homeostasis in cows with special reference to parturient hypocalcemia. *American Journal of Physiology* 246, 689–704.
- Ramberg** C.F. 1995. Kinetic overview: modelling calcium metabolism in pregnant and lactating cows. In: Siva Subramanian, K.N., Wastney, M.E. (Eds.), *Kinetic models of trace element and mineral metabolism during development*. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA, pp. 11–28.
- Reimers** T.J., Smith R.D., Newman S.K. 1985. Management factors affecting reproductive performance of dairy cows in the northeastern United States. *Journal of Dairy Science* 68, 963–972.
- Richter** J., Götze R. 1986. *Ostetricia veterinaria*. Editoriale Grasso, Bologna.
- Risco** C.A., Drost M., Thatcher W.W., Savio J., Thatcher M.J. 1994. Effects of calving-related disorders on prostaglandin, calcium, ovarian activity and uterine involution in post-partum dairy cows. *Theriogenology* 42, 183-203.

- Risco** C.A. 2004. Managing the postpartum cow to maximize pregnancy rates. Proceedings Florida Dairy Reproduction Road Show, 10–21.
- Roche** J.F., Mackey D., Diskin M.D. 2000. Reproductive management of postpartum cows. *Animal Reproduction Science* 60–61, 703–712.
- Royal** M.D., Darwash A.O., Flint A.P.F., Webb R., Woolliams J.A., Lamming G.E. 2000. Declining fertility in dairy cattle: changes in traditional and endocrine parameters of fertility. *Animal Science* 70, 487–501.
- Sabbioni** A., Superchi P., Bonomi A., Fontana F., Maggiali A. 1998. Fonti di variazione del body condition score in bovine di razza Frisone Italiana, Bruna Italiana e Reggiana. *Annali della Facoltà di Medicina Veterinaria di Parma* 18, 105-119.
- Sherwood** L., Klandhorf H., Yancey P. 2006. *Fisiologia degli animali*. Zanichelli, Bologna.
- Stevenson M.A.**, Lean I.J. 1998. Descriptive epidemiological study on culling and deaths in eight dairy herds. *Australian Veterinary Journal* 76, 482–488.
- Van Saun** R.J., 1997. Parturition nutrition: the key to diagnosis and management of periparturient disease. In: *The Bovine Proceedings - No. 30, September 1997*. pp. 33–42.

- Veerkamp** R.F., Beerd B. 2007. Genetics and genomics to improve fertility in high producing dairy cows. *Theriogenology* 68S, S266–S273.
- Weigel** K.A. 2001. Controlling inbreeding in modern breeding programs. *Journal of Dairy Science* 84, E177–E184.
- Wilde** D. 2006. Influence of macro and micro minerals in the periparturient period on fertility in dairy cattle. *Animal Reproduction Science* 96, 240–249.
- Wildman**. E.E., Jones G.M., Wagner P.E., Bowman R.L. 1982. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. *Journal of Dairy Science* 65, 495–501.

# Ringraziamenti

Si ringrazia l'azienda agricola "Benetudi" di Peppino Bua e figli e la CEVA VETEM SpA.