



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PARMA

FACOLTA' DI MEDICINA VETERINARIA

Dipartimento di Salute Animale

Sezione di Patologia Generale e di Anatomia Patologica Veterinaria

Dottorato di Ricerca in

Immunologia, Immunopatologia Sperimentale e Comparata

XXIII ciclo

“Valutazione di un protocollo gestionale e vaccinale per la prevenzione della diarrea neonatale del vitello”

“Evaluation of a vaccination protocol and managerial procedures for the prevention of neonatal calf diarrhoea”

Coordinatore

Chiar.mo Prof. Attilio Corradi

Tutor

Chiar.ma Prof.ssa Anna Maria Cantoni

Dottorando Dr. Stefano Jottini

Gennaio 2011

*Ai miei Nonni,
Remo, Daria, Maria ed Enzo.
Grazie.*

Indice

Riassunto	pag. 1
Abstract	pag. 3
Introduzione	pag. 4
Cenni sullo sviluppo del sistema immunitario del vitello	pag. 6
Principali cause della diarrea neonatale del vitello	pag. 20
Casistica personale	
Introduzione	pag. 45
Materiali e Metodi	pag. 46
Risultati	pag. 51
Schede degli allevamenti	pag. 58
Discussione	pag. 140
Conclusioni	pag. 147
Bibliografia	pag. 148

Riassunto

La diarrea neonatale del vitello è una patologia multifattoriale, riconosce quindi diverse cause sia infettive, sia gestionali. Gli agenti eziologici primari sono rappresentati da Rotavirus, Coronavirus, *E. coli* e *Cryptosporidium parvum*. Tali microrganismi si ritrovano facilmente nelle feci degli animali adulti; ambienti fortemente contaminati da materiale fecale rappresentano quindi una fonte di contagio. I vitelli infatti nascono e crescono in differenti condizioni ambientali, molte delle quali non risultano idonee e predispongono allo sviluppo della diarrea. Anche l'aspetto gestionale gioca un ruolo molto importante, le operazioni di somministrazione e soprattutto di conservazione del colostro sono fondamentali per prevenire le condizioni di "Failure of Passive Transfer" (FPT). Alla nascita il vitello è privo di immunoglobuline e la continua e duratura presenza di anticorpi di origine materna (immunità passiva) nel lume intestinale è fondamentale per far fronte ai patogeni enterici che colpiscono il vitello nei primi giorni di vita. Lo scopo del presente lavoro è stato quello di valutare l'efficacia di un protocollo gestionale e vaccinale atto alla prevenzione della diarrea neonatale del vitello.

Per la valutazione del protocollo sono state indagate 40 aziende, nelle quali sono stati raccolti dati inerenti le condizioni igienico-sanitarie delle strutture ospitanti le madri ed i vitelli, è stata valutata la colostratura, la concentrazione anticorpale di IgG prima e dopo l'inserimento del protocollo e la qualità del colostro sia delle primipare, sia delle pluripare. Infine sono stati raccolti i dati relativi alla prevalenza dei sintomi di diarrea ed alla mortalità. I risultati hanno mostrato che, prima dell'utilizzo del protocollo, le operazioni di colostratura non venivano effettuate correttamente, infatti la maggior parte dei vitelli aveva valori di IgG sierici sotto i 1000mg/dl. In seguito all'inserimento del protocollo vaccinale e gestionale la maggior parte dei vitelli ha aumentato la concentrazione di IgG oltre il valore soglia di 1000mg/dl, mentre le forme diarroiche e

la mortalità sono diminuite. In conclusione si è visto che l'aspetto più importante legato allo sviluppo della diarrea neonatale del vitello è correlato alla corretta colostratura. La vaccinazione può essere uno strumento utile alla prevenzione della diarrea ma deve essere sempre associata a ottime condizioni igienico-sanitarie e da una buona gestione e somministrazione del colostro.

Abstract

Neonatal calf diarrhoea is a complex disease mainly caused by Rotavirus, Coronavirus, *Escherichia coli* F5 and *Cryptosporidium parvum*. These pathogens are easily found within bovine faeces and environment which is littered with faeces could be a primary source of infection for calves. Often the animals grow up in farms with poor hygienic condition.

The collection, management and administration of colostrum is another important aspect primary involved with neonatal calf diarrhoea development. Newborns in fact do not have immunoglobulins and they must take enough quantity of colostrum to ensure a correct supply of antibodies. The goal of this study was to evaluate an operational protocol for prevention of neonatal calf diarrhoea.

Data concerning colostrum quality, administration and environment hygiene were collected from 40 farms. Calves serological IgG values were compared before and after the application of the protocol. For this evaluation data from 40 farms were collected. The assessment of clinical signs of diarrhoea and mortality were also performed. The majority of the calves did not have enough IgG levels (<1000mg/dl), meaning that the procedures of colostrum administration were not correctly performed. IgG serological levels reached values above 1000mg/dl in the majority of calves after the application of the measures provided in the protocol, as well as clinical signs and mortality decrease after the adoption of these procedures.

In conclusion it was possible to demonstrate that the administration of colostrum is one of the most important aspect related to the development of neonatal calf diarrhoea. Immunization of dams with specific products against Rotavirus, Coronavirus and *E. coli* F5 can be an useful tool but it must be followed by a good management of colostrum and high level of environmental hygiene.

Introduzione

La diarrea neonatale del vitello è una patologia multifattoriale che riconosce numerosi agenti eziologici che possono colpire sia singolarmente, sia in associazione (Barrington et al., 2002; Jayappa et al., 2008; Moon et al., 1978). Le perdite economiche più importanti sono da ricercarsi nell'elevato tasso di mortalità, che può arrivare fino a 80%, nei costi degli interventi veterinari e nella ridotta produttività dei sopravvissuti. Gli agenti eziologici primari più importanti sono rappresentati da Rotavirus, Coronavirus, *E. coli* e *Cryptosporidium parvum* (Mebus et al., 1971; Mebus et al., 1973; Constable, 2009). Gli animali più colpiti sono quelli al di sotto dei 21 giorni di vita, tuttavia l'infezione può colpire in forma subclinica anche gli adulti, essi infatti rappresentano il serbatoio di questi patogeni (Crouch and Acres, 1984).

I vitelli nascono e crescono in differenti condizioni ambientali, molte delle quali non risultano idonee e predispongono allo sviluppo della diarrea. Molti vitelli infatti sono a stretto contatto gli uni con gli altri, non godono di spazio sufficiente, sono stabulati in ambienti umidi, poco ventilati, imbrattati di materiale fecale e con scarsa illuminazione solare, inoltre, tramite gli operatori, sono sottoposti ad alto rischio di contaminazione (Barrington et al., 2002). Anche l'aspetto gestionale gioca un ruolo molto importante, le operazioni di somministrazione e soprattutto di conservazione del colostro sono fondamentali per prevenire le condizioni di failure of passive transfer (FPT) e di contaminazione batterica, il colostro infatti è un composto altamente ricco di nutrienti, pertanto rappresenta anche un substrato ideale per la crescita di batteri, se questo non è conservato e somministrato nel modo corretto, può rappresentare un'alta fonte di contaminazione batterica che predispone allo sviluppo di sintomi enterici (McGuirk and Collins, 2004).

Alla nascita il vitello è privo di immunoglobuline (Brambell, 1966), la continua e duratura presenza di anticorpi di origine materna (immunità passiva) nel lume intestinale è quindi fondamentale per far fronte ai patogeni enterici che lo colpiscono nei primi giorni di vita. Un modo per aumentare la protezione anticorpale è quello di somministrare il colostro materno, ricco di anticorpi specifici diretti contro i principali patogeni enterici. Sebbene molte madri abbiano anticorpi contro rotavirus e coronavirus (Rodak et al., 1982), durante il passaggio da colostro a latte si assiste ad una rapida diminuzione di tali anticorpi, questo spiega in parte il motivo dell'aumento dell'incidenza delle diarree nei vitelli di 5 giorni di vita.

In commercio sono presenti diversi vaccini che si sono dimostrati attivi nel fornire anticorpi specifici e duraturi contro rotavirus e coronavirus, tuttavia in condizioni di campo, spesso le forme diarroiche si manifestano nonostante il loro impiego (Crouch, 1985; Crouch et al., 2001; Dauvergne et al., 1983; Kohara et al., 1997; Mostl and Burkl, 1988; Stepanek et al., 1987; Wieda et al., 1987).

Come già ricordato, la diarrea neonatale è una patologia che riconosce diversi fattori, gestionali, ambientali ed infettivi, scopo di questo lavoro è stato valutare l'efficacia di un protocollo che possa ridurre al minimo i rischi legati a questi fattori predisponenti, cercando così di prevenire lo sviluppo delle diarree neonatali del vitello.

Cenni sullo sviluppo del sistema immunitario del vitello

L'organismo contiene tutti i componenti necessari per sostenere la vita, esso è infatti caldo, umido e ricco di diversi tipi di nutrienti. Tali caratteristiche però fanno sì che l'organismo sia anche facilmente attaccabile da patogeni che cercano di invaderlo per sfruttarne le risorse a loro favore. Per cercare di far fronte a tutti i possibili attacchi da parte dei microorganismi il corpo sfrutta un complesso insieme di meccanismi immunitari che cooperano in diversi modi nelle differenti situazioni, a seconda anche della tipologia dei patogeni coinvolti (virus, batteri, funghi e parassiti) [Tizard, 2009].

Al momento della nascita il sistema immunitario del vitello è già presente in tutte le sue componenti che però non sono ancora pienamente funzionali; lo sviluppo di tutti i meccanismi difensivi dell'organismo infatti inizia in utero, continua a maturare per diversi giorni dopo la nascita e va incontro ad adattamenti e modificazioni che durano tutta la vita, come all'acquisizione della memoria immunitaria dopo un'infezione o un intervento immunizzante.

Il sistema immunitario si sviluppa in modo analogo in tutti i mammiferi, in particolare nel vitello questo sviluppo avviene tra il 41° ed il 175°gg di gestazione. Il timo è il primo organo linfoide che si genera, i linfociti B appaiono subito dopo lo sviluppo della milza e dei linfonodi ed aumentano considerevolmente durante i primi 6 mesi di vita. Al contrario la sottopopolazione dei linfociti T è già presente alla nascita in modo pressoché paragonabile all'adulto. La capacità del feto di rispondere agli antigeni compare subito dopo lo sviluppo degli organi linfatici, tuttavia non tutti gli antigeni sono egualmente in grado di stimolarli.

Di seguito è riportato in dettaglio lo sviluppo dei differenti organi linfatici:

- timo (41gg post concepimento),
- linfociti nel sangue periferico (45gg post concepimento),

- midollo osseo e milza (56gg post concepimento),
- cellule B IgM positive (59gg post concepimento),
- linfonodi (60gg post concepimento),
- sistema del complemento (90gg post concepimento),
- granulociti (110gg post concepimento),
- IgG sieriche (130gg post concepimento)*,
- cellule B IgG positive (135gg post concepimento),
- IgM sieriche (145gg post concepimento),
- tonsille (155gg post concepimento),
- placche del Peyer (175gg post concepimento).

*: la capacità di riscontrare anticorpi nel circolo ematico del feto bovino è strettamente subordinata alla sensibilità della tecnica utilizzata, normalmente sono riscontrabili solo anticorpi diretti contro i virus [Tizard 2009].

Durante lo sviluppo del feto in utero si assiste alla progressiva comparsa dei diversi meccanismi difensivi immunitari; tali meccanismi possono essere divisi in innati ed acquisiti in funzione della loro capacità di agire solo dopo riconoscimento specifico dell'antigene (immunità acquisita) o indipendentemente dalla natura del patogeno (immunità innata). Sebbene questi meccanismi siano in grado di agire separatamente, nella maggior parte dei casi si trovano a cooperare tra loro garantendo una protezione migliore e più completa. I meccanismi di difesa non-immunitari includono enzimi, acidi gastrici, acidi grassi e la flora microbica che colonizza l'intestino del neonato al momento della nascita. Anche il sistema del complemento e le cellule ad attività fagocitaria come i neutrofili e i macrofagi, fanno parte di questo gruppo [Barrington and Parish, 2001]. Queste ultime cellule contribuiscono solo in parte alle difese del feto in quanto rimangono nei loro siti di derivazione fino al 130° giorno di gestazione, momento in cui iniziano ad essere riversate in circolo. I neutrofili contribuiscono poco ai processi infiammatori del neonato,

solo durante le ultime fasi di gestazione questi sono in grado di esplicare la loro attività fagocitaria, mentre il loro effetto battericida non è ancora massimo e subisce un decremento in prossimità del parto per effetto del cortisolo fetale. L'attività battericida nel siero fetale bovino è rilevabile a partire dal 75° giorno di gestazione e l'attività emolitica del complemento è misurabile dal 90° giorno di gestazione. Tuttavia durante il corso della gestazione il livello del complemento nel feto è circa la metà di quello presente nel bovino adulto. Anche la funzionalità dei macrofagi è minore rispetto a quella degli adulti, soprattutto nell'assistere la risposta immunitaria, la fagocitosi e la formazione di granulomi. I meccanismi di difesa non immunitari aumentano la loro efficacia durante la gestazione e, sebbene siano pienamente funzionali fin dalla nascita, la loro attività può essere compromessa da stress, denutrizione, infezioni e da tossine.

L'immunità acquisita è invece rappresentata da anticorpi, linfociti memoria e dalle cellule effettrici. I linfociti si sviluppano dalle cellule staminali, vengono rilasciati nel circolo ematico e raggiungono, in un secondo momento, le loro sedi specifiche dove si differenziano ulteriormente. In particolare i linfociti T maturano nel timo, mentre i linfociti B si differenziano nel midollo osseo e nelle placche del Peyer. Indipendentemente dalle stimolazioni antigeniche, durante il primo trimestre di gestazione i linfociti T e B si spostano dagli organi linfoidei primari verso i linfonodi, la milza e il tessuto linfatico associato alle mucose.

In funzione del periodo di gestazione e del tipo di antigene, il feto può essere in grado di innescare una risposta immunitaria. Ad esempio il feto bovino è in grado di sviluppare anticorpi contro rotavirus a 73gg post concepimento, contro parvovirus a 93 giorni di gestazione, contro il virus parainfluenza 3 già dai 120gg di gestazione, contro il virus della BVD a 190gg, mentre solamente alla nascita può iniziare a produrre anticorpi contro *Brucella abortus*. Alla nascita il sistema immunitario del vitello non è ancora completamente maturo, sebbene l'animale sia già in grado di rispondere a numerosi patogeni [Barrington and Parish 2001].

Risposta immunitaria alle infezioni intrauterine

Il feto benchè non sia completamente privo di capacità di difesa, è meno efficace nel combattere le infezioni; le sue difese immunitarie acquisite infatti non sono ancora completamente funzionali. Alcune infezioni inoltre possono apparire molto blande o subcliniche nella madre, ma allo stesso tempo essere devastanti per il feto (es. infezioni da Herpes Virus Bovino-1 (BoHV-1), Virus della Diarrea Virale del Bovino (BVDv) e altri). Normalmente il feto riesce a far fronte alle infezioni rispondendo con iperplasia linfonodale e produzione di anticorpi, per questo motivo il riscontro di immunoglobuline in un vitello non colostrato è indice di infezioni intrauterine [Barrington and Parish 2001; Tizard 2009].

In funzione del periodo in cui viene infettato e dall'agente patogeno responsabile, nel feto si sono riscontrate tre diverse risposte:

- morte fetale: ciò accade se le risposte immunitarie non sono sufficientemente attive per impedire la replicazione, la diffusione del patogeno con distruzione dei tessuti fetali. Questo solitamente accade nelle prime fasi di gestazione, ad esempio per infezioni da BVDv prima del 50°gg dal concepimento [Barrington and Parish 2001; Tizard 2009].
- Sviluppo di tolleranza immunologica: le infezioni fetali possono portare alla formazione di animali persistentemente infetti, alcuni virus possono indurre tolleranza immunologica che esita in una scarsa o nulla produzione di anticorpi specifici per il virus infettante; ad esempio l'infezione da parte di BVDv tra il 50° ed il 120°gg di gestazione può portare alla formazione di vitelli persistentemente infetti [Barrington and Parish 2001; Tizard 2009].

- Risposta immunitaria: se i patogeni colpiscono nel momento in cui il sistema immunitario del feto è sufficientemente maturo, questo può rispondere e combattere l'infezione, oppure subire gravi danni e/o malformazioni [Barrington and Parish 2001; Tizard 2009].

Risposta immunitaria del vitello neonato

Al momento della nascita il vitello passa da un ambiente sterile come l'utero ad uno ricco di microrganismi. A questo punto il vitello è in grado di fruire di entrambe le tipologie di risposta immunitaria (innata e acquisita), anche se è da sottolineare che la risposta acquisita di un neonato è sicuramente primaria e cioè caratterizzata da una scarsa produzione anticorpale, che andrà in contro ad un effetto booster solamente dopo un periodo di 20/30 giorni [Tizard 2009]. Alla nascita gli organi linfoidei primari e secondari sono popolati da cellule che si sono sviluppate indipendentemente da stimolazioni antigeniche, il numero dei linfociti B circolanti è circa il 30% di quello presente nell'adulto, raggiunto solo successivamente, a circa 20gg di vita [Senogles et al., 1978]. Le immunoglobuline prodotte dai linfociti B iniziano a comparire in circolo pochi giorni dopo la nascita, tra le 36 ore e le 3 settimane di vita e la produzione endogena di IgG1 è stimata essere 1gr./die [Devery et al., 1979].

La risposta immunitaria del vitello al di sotto del mese di vita è inoltre preferenzialmente di tipo Th2 rispetto a Th1, le cellule Th1 del neonato infatti sono molto sensibili all'effetto di apoptosi indotto dalle interleuchine 4 e 13 (IL-4; IL-13). Alcune citochine Th-1 come l'interferone- γ (IFN- γ) sembrano anche causare danni placentari; questo spostamento verso la risposta Th-2 non è casuale ma sembra essere dovuto all'influenza di ormoni prodotti durante la gravidanza.

Analogamente alla risposta umorale, anche l'immunità cellulo-mediata alla nascita non è completamente attiva. L'immunità locale associata alle mucose inizia ad essere attiva dopo la prima settimana di vita, mentre le immunoglobuline M iniziano ad essere prodotte 3-5 settimane dopo la nascita. A circa 2 settimane di vita la risposta immunitaria cellulo-mediata del vitello raggiunge una funzionalità paragonabile a quella di un bovino adulto [Barrington and Parish 2001].

Composizione e Formazione del Colostro

Immunoglobuline nel colostro

La colostrogenesi, processo per il quale vengono trasferite le immunoglobuline dal sangue alle secrezioni mammarie, inizia molte settimane prima del parto sotto l'influenza di estrogeni e progestinici, raggiunge il picco 1-3 giorni prima del parto [Sasaki et al., 1976] e si conclude alla nascita del vitello. Durante questo periodo possono essere trasferiti alla mammella fino a 500g di IgG per settimana [Brandon et al., 1971; Butler, 1974]. Tutte le IgG, la maggior parte delle IgM e circa il 50% delle IgA colostrali derivano dal sangue della madre; al contrario nel latte solo il 30% delle IgG ed il 10% delle IgA hanno la stessa derivazione, il resto viene prodotto direttamente dal tessuto linfatico mammario [Tizard, 2009]. La maggior parte delle IgG trasferite alla mammella sono IgG1 (circa 85%), per questo motivo la quantità di questo tipo di globuline viene utilizzato come indicatore della qualità del colostro [Brandon et al., 1971; Butler, 1974]. La quantità di IgG1 infatti è da 5 a 10 volte più alta rispetto alle IgG2, probabilmente perché il loro trasferimento dal sangue alla mammella dipende da meccanismi di trasporto selettivo differenti [Brandon et al., 1971, Dixon et al., 1971].

Il trasporto di IgG1 nel colostro richiede due funzioni distinte [Larson et al., 1980]:

- recettori specifici per IgG1 a livello della membrana basale delle cellule secernenti della ghiandola mammaria, posizionate in modo da catturare le IgG1 nei fluidi extracellulari. Questi recettori specifici per la frazione FC delle IgG1, compaiono solamente durante la formazione del colostro e diminuiscono drasticamente durante la normale lattazione [Butler, 1983; Gay, 1983; Guidry et al., 1980].
- Transocitosi delle IgG1 dal comparto extracellulare al lume della ghiandola mammaria, tale funzione è esplicata dalle cellule epiteliali della ghiandola mammaria [Gay, 1983; Guidry et al., 1980].

La colostrogenesi, come molte funzioni della ghiandola mammaria, sembra essere regolata ed influenzata da ormoni lattogenici e meccanismi locali della ghiandola stessa. Diversi studi confermano che la comparsa dei recettori specifici per IgG1 è temporalmente legata allo stadio I della lattogenesi (differenziazione enzimatica e citologica delle cellule associate alla lattazione con produzione di secreto ancora limitata); gli ormoni che agiscono in questa fase sono gli estrogeni ed il progesterone [Smith and Schanbacher, 1973; Winger et al., 1995]. Durante lo stadio II della lattogenesi (fase in cui si assiste ad una copiosa produzione di latte), gli ormoni come la prolattina portano all'aumento della produzione di latte ed alla contemporanea cessazione del trasferimento di IgG1 [Barrington et al., 1997; Barrington et al., 1999]. Il processo di formazione del colostro è quindi frutto della cooperazione di meccanismi di regolazione locale dei singoli quarti e delle secrezioni sistemiche ormonali [Guidry et al., 1980; Hartmann, 1973; Lopez et al., 1988].

Altri fattori colostrali

Leucociti: il colostro dei mammiferi contiene circa 1×10^6 cellule per ml. In funzione della specie e del periodo di lattazione le tipologie cellulari possono variare; si può però

affermare che nel colostro sono presenti le quattro tipologie cellulari principali: linfociti, neutrofili, macrofagi e cellule epiteliali. Nel colostro di vacca, i macrofagi ed i neutrofili sono le tipologie cellulari predominanti mentre i linfociti rappresentano circa il 30% delle cellule totali, essi inoltre sembrano originare dai linfonodi mesenterici [Park et al., 1992; Parmely and Beer, 1977]. Nelle 48 ore che precedono il parto e nelle 48 ore successive i linfociti T aumentano ed arrivano a costituire rispettivamente il 33% ed il 16% dei mononucleati presenti nel colostro [Park et al., 1992]. Inoltre, durante tutte le fasi della lattazione, i linfociti T sono costantemente più numerosi dei linfociti B; all'interno della popolazione dei linfociti T, nei 2 giorni che precedono e che seguono il parto, il rapporto tra linfociti T CD4⁺/CD8⁺ (Cluster of Differentiation) è pari a 0,83. I linfociti T presenti nel colostro sono fenotipicamente distinti dai linfociti T presenti in circolo, i primi infatti esprimono per lo più i recettori α/β TCR (T cell receptor), mentre i linfociti T in circolo esprimono maggiormente i recettori TCR γ/δ [Le Jan, 1996, Park et al., 1992, Wyatt et al., 1994]. Esistono variazioni nell'espressione di altri recettori di superficie anche tra i linfociti presenti nel circolo ematico e quelli contenuti nelle secrezioni mammarie, il CD2 ad esempio è maggiormente espresso nel colostro (circa il doppio), le cellule CD45⁺ invece sembrano essere circa cinque volte inferiori nel colostro rispetto al sangue [Park et al., 1992].

I linfociti T presenti nel colostro, in base alle loro caratteristiche fenotipiche, sono in grado di trasferire funzioni immunitarie al vitello, nonché di produrre citochine. I linfociti CD4⁺ sono infatti in grado di produrre citochine, mentre il ruolo dei linfociti T CD8⁺ sembra essere quello di immunodeprimere il vitello per permettere un ottimo controllo e sviluppo del suo sistema immunitario [Le Jan, 1996].

I linfociti B rappresentano il 24% delle cellule presenti nelle secrezioni mammarie, il loro ruolo principale sembra essere quello di sintetizzare immunoglobuline dimeriche IgA, che verranno poi escrete nel colostro [Park et al., 1992].

I polimorfonucleati presenti nel colostro hanno la caratteristica di essere scarsamente funzionali, particolarmente nella migrazione e nella fagocitosi. Per questo motivo si pensa che il loro ruolo in realtà sia quello di proteggere la ghiandola mammaria dalle infezioni e non quello di trasferire immunità al vitello. È stato comunque ipotizzato che i polimorfonucleati, fagocitano le immunoglobuline per proteggerle dall'azione digestiva degli enzimi e dell'ambiente acido gastrico, in modo che possano poi essere assorbite nel tratto intestinale [Reidel-Caspari and Schmidt, 1991].

Il principale ruolo dei macrofagi nelle secrezioni mammarie e quindi nel neonato, è quello di produrre citochine e di fungere da cellula presentante l'antigene (APC) [Politis et al., 1991].

Citochine: le citochine sono presenti in forma libera nelle secrezioni mammarie, tuttavia in letteratura sono disponibili pochi dati riguardo la loro attività. Nelle secrezioni mammarie del bovino molecole con attività simile all'interleuchina-2 (IL-2) sono presenti due settimane prima del parto ma decrescono rapidamente una settimana prima del termine della gestazione. Studi inerenti l'attività del Tumor Necrosis Factor (TNF) sono contrastanti, alcuni studi infatti dimostrano che l'attività antivirale attribuita al TNF, aumenta in prossimità del parto [Sordillo et al., 1991], tuttavia uno studio più recente ha dimostrato che il TNF- α è presente nel latte ma la sua quantità diminuisce drasticamente dalle 4 alle 6 settimane prima del parto [Rewinski and Yang, 1994].

Il colostro è anche ricco di IGF-I (insulin-like growth factor-I) che aiuta a regolare la crescita del neonato e contribuisce ad aumentare la sua risposta immunitaria [Oda et al.,

1994]. Infine anche il TGF (Trasforming Growth Factor) è presente nel colostro, tuttavia la sua quantità diminuisce significativamente 30gg dopo il parto [Tokuyama and Tokuyama, 1993].

Assorbimento del Colostro

Dopo la nascita il vitello assume in media 2 litri di colostro, tuttavia alcuni soggetti possono arrivare ad assumerne fino a 6 litri. Nel neonato le proteine colostrali non vengono degradate ed assorbite come nutrienti, ma grazie alla ridotta azione delle proteasi ed ai fattori antitripsinici contenuti nel colostro, le molecole proteiche arrivano integre fino al piccolo intestino [Tizard, 2009].

In seguito all'assunzione del colostro, il vitello deve mettere in atto una serie di meccanismi per poterlo assorbire. Il processo di assorbimento delle macromolecole contenute nel colostro da parte del vitello, non è regolato da meccanismi di trasporto specifici, come invece accade nella colostrogenesi, pertanto l'assorbimento non è selettivo [Besser and Gay, 1985].

Gli anticorpi contenuti nel colostro, una volta arrivati nel piccolo intestino, si legano a recettori Fc, chiamati FcRn, che sono localizzati sulle cellule epiteliali intestinali; tali recettori sono contenuti anche nei dotti e negli acini della ghiandola mammaria e sembrano essere coinvolti nella secrezione delle immunoglobuline all'interno del colostro.

I recettori FcRn (rFcRn) appartengono alla famiglia delle molecole MHC (Major Histocompatibility Complex) e sono costituiti da catene α appaiate a β 2-microglobuline. Una volta legati a questi recettori, gli anticorpi vengono assorbiti per pinocitosi e trasferiti con un meccanismo di esocitosi ai vasi linfatici; successivamente, tramite il dotto toracico, vengono

riversati in circolo [Tizard, 2009, Staley et al., 1972; Weaver et al., 2000]. L'intestino del vitello è però privo di recettori specifici per le diverse immunoglobuline pertanto vengono assorbite tutte indistintamente l'una dall'altra. Il processo di assorbimento inizia nel momento in cui le macromolecole entrano in contatto con la mucosa intestinale ed è molto efficiente nelle prime 6h, dopodiché l'efficacia si riduce fino a scomparire già 24h dopo la nascita e indipendentemente dalla presenza di altre macromolecole a livello intestinale. Una possibile spiegazione di questo fenomeno è la sostituzione delle cellule epiteliali aventi i recettori FcRn con altre prive di rFcRn [Besser and Gay, 1985; Stott et al., 1979-1; Stott et al., 1979-2; Tizard, 2009].

Il termine “chiusura” viene utilizzato per indicare il termine del periodo in cui le macromolecole possono passare la barriera intestinale e guadagnarsi così il torrente circolatorio. La precoce assunzione del colostro tende a velocizzare la comparsa della chiusura, al contrario un ritardo nella colostratura tende a ritardarla fino alla 33^a ora di vita [Tizard, 2009].

Un altro fattore che può influenzare l'assorbimento è la presenza della madre, diversi studi hanno infatti dimostrato che alimentare il vitello nelle vicinanze della madre porta ad una maggiore efficacia di assorbimento, che può arrivare anche al 35% in più rispetto ai vitelli alimentati lontano dalla madre [Tizard, 2009].

L'efficacia dell'assorbimento infine sembra essere legata alla concentrazione nel colostro di immunoglobuline e di altre macromolecole non-globuline; l'assorbimento di immunoglobuline è quindi inversamente proporzionale alla presenza di altre macromolecole non-globuline nel lume intestinale [Besser and Gay, 1985].

Emivita delle molecole assorbite dal colostro

Immunoglobuline: l'emivita delle immunoglobuline assorbite con il colostro è di circa 11.5 – 16 giorni [Husband et al., 1972; Sasaki et al., 1976]. Fino a poco tempo fa non era ben chiaro come avvenisse la clearance delle IgG colostrali. Si ipotizzava un ruolo dell'intestino nella clearance di almeno parte delle IgG. Studi condotti da Besser e colleghi hanno dimostrato che la maggior parte della clearance delle IgG1 avviene tramite l'intestino, il 70% delle IgG1 assunte con il colostro sono infatti state riscontrate nel lume intestinale [Besser et al., 1988-1]. Le IgG1 colostrali riversate nel lume intestinale conservano le loro capacità di legare gli antigeni aiutando così a prevenire le infezioni [Besser et al., 1988-1; Besser et al., 1988-2].

Cellule: sebbene si sappia che le cellule possano passare la barriera intestinale guadagnando il circolo, scarse informazioni sono disponibili sulla loro persistenza nel torrente circolatorio e sui loro effetti a medio-lungo termine [Barrington and Parish 2001].

Ruolo protettivo dei leucociti colostrali

Non solo gli anticorpi colostrali sono in grado di proteggere dalle infezioni, un ruolo altrettanto importante sembra essere ricoperto dai linfociti. Studi condotti su vitelli neonati hanno dimostrato che i linfociti giocano un ruolo cruciale nella protezione dalle infezioni da rotavirus [Archambault et al., 1988]. Gli animali alimentati con colostro privato di linfociti hanno escretto maggiori quantità di rotavirus rispetto ai vitelli alimentati con colostro contenente alte quantità di linfociti. Il comparto cellulare colostrale è risultato fondamentale

anche nelle infezioni da parte di *E. coli* enterotossigeni, i vitelli alimentati con colostro privo di elementi cellulari presentavano nelle feci una carica batterica maggiore rispetto ai vitelli alimentati con colostro normale [Tizard, 2009]. Questi studi dimostrano quindi che i linfociti colostrali giocano un ruolo protettivo fondamentale contro le infezioni neonatali dei vitelli [Barrington and Parish 2001].

Il concetto del “Failure of Passive Transfer” (FPT)

Il termine FPT viene indicato per descrivere la condizione in cui il vitello non ha assorbito adeguate quantità di IgG colostrali (trasferite passivamente dalla madre al feto tramite il colostro); infatti le IgG costituiscono la parte più importante e più studiata del colostro. Bisogna anche considerare che il rischio che un vitello contragga un’infezione è legato ad un complesso insieme di fattori, dei quali la concentrazione sierica di IgG ne rappresenta solamente una piccola parte [Barrington and Parish, 2001].

Il vitello può presentare la condizione di FPT per tre fattori:

- *carezza nella produzione di colostro*: si verifica quando la madre non produce sufficienti quantità di colostro o quando il colostro prodotto non è qualitativamente buono. Una causa può essere legata al parto anticipato, il colostro è infatti il risultato dell’accumulo di secrezioni della mammella nelle ultime fasi di gestazione, in questo caso potrebbe non essere ancora completamente formato. La produzione del colostro è anche soggettiva, alcuni individui sono geneticamente meno predisposti ad accumulare adeguate quantità di anticorpi nel colostro [Tizard, 2009]. Anche la razza della madre è importante, razze come ad esempio la Jersey, la Bruna e l’Ayrshire, solitamente poco produttive, sono in grado di fornire un

ottimo colostro, al contrario altre razze, come la frisona, forniscono grandi quantità di colostro a scapito della qualità [Muller and Ellinger, 1981].

- *Carenza nell'assunzione*: questa condizione si verifica quando il vitello non viene alimentato correttamente, oppure quanto la madre è inesperta (primipare nella linea vacca-vitello), ma anche alla scarsa predisposizione del vitello a succhiare [Tizard, 2009].
- *Carenze nell'assorbimento*: è una delle cause principali di FPT nella maggior parte delle specie animali. Può derivare da diversi fattori tra cui problemi metabolici del vitelli, vitelli nati da parti distocici possono cadere in acidosi respiratoria. In letteratura ci sono opinioni contrastanti, alcuni studi dimostrano che vitelli in acidosi respiratoria sono più soggetti a FPT [Besser et al., 1990], altri invece confermano che se alimentati correttamente i vitelli in acidosi respiratoria possono assorbire quantità corrette di IgG [Tyler and Ramsey, 1991; Drewry et al., 1999]. Da questi studi si può concludere che i vitelli con acidosi respiratoria potenzialmente hanno la capacità di assorbire adeguate quantità di IgG, ma il fatto che siano disvitali e che abbiano difficoltà ad alzarsi può compromettere la suzione e di conseguenza l'effettivo assorbimento di IgG [Weaver et al., 2000].

Principali cause della diarrea neonatale del vitello

Premessa

Con il termine diarrea ci si riferisce a un'alterazione della funzionalità intestinale, in cui il contenuto di sostanza secca nelle feci emesse scende sotto il 15% ed il contenuto idrico sale ad oltre l'85%. La diarrea può rappresentare un sintomo dell'inflammazione dell'intestino, come può anche essere l'espressione di un disturbo funzionale non infiammatorio.

Fisiologicamente il cibo proviene dall'abomaso, si miscela nell'intestino tenue con i secreti della mucosa intestinale e del pancreas, nonché con la bile. I polisaccaridi, l'amido, le proteine e i grassi vengono scissi per via enzimatica e riassorbiti insieme all'acqua e gli elettroliti. Nel grosso intestino la demolizione dei substrati ancora indigeriti continua ad opera della flora batterica e fungina, simile a quella del rumine. Gli acidi grassi a catena corta prodotti dalla digestione batterica dei polisaccaridi, l'ammoniaca prodotta dalla decomposizione microbica delle proteine, le vitamine sintetizzate, gli elettroliti e l'acqua sono riassorbiti nel grosso intestino.

Quattro diversi meccanismi, da soli o in combinazione, possono provocare la diarrea:

- diarrea iperosmotica: a causa di un'insufficiente digestione dell'ingesta e/o malassorbimento, si accumulano nel contenuto intestinale sostanze osmoticamente attive, che provocano ridotto assorbimento dell'acqua e ulteriore richiamo della stessa nel lume; queste sostanze sono assunte con il foraggio oppure prodotte durante i processi digestivi microbici.
- Diarrea secretoria: alcune tossine batteriche (per esempio di *E. coli*) aderiscono ai villi della mucosa intestinale, inducendo una cascata enzimatica negli enterociti, che provoca secrezione di acqua ed elettroliti.

- Diarrea essudativa: in seguito ad infiammazioni acute o croniche vi è l'aumento di secrezione di liquidi (siero, sangue, elettroliti, prodotti della flogosi) e la ridotta capacità assorbente di acqua, sostanze nutritive ed elettroliti.
- Diarrea da ipermotilità intestinale: in seguito a stimoli psicogeni (stress per il trasporto, cattura di bovini liberi, ecc), di irritazioni del tratto gastrointestinale e di tossine, la motilità intestinale può intensificarsi (Arnaudo, 2009; Doll, 2004).

Cause infettive

Rotavirus

I Rotavirus sono una delle maggiori cause di diarrea nei neonati di numerose specie di mammiferi. Generalmente tale patologia è causata da virus provenienti da animali della stessa specie, mentre l'importanza e l'estensione della trasmissione tra specie diverse è ancora poco chiara, in quanto è stata dimostrata in condizioni sperimentali, ma il suo significato in natura sembra essere poco importante (Kapikian and Chanock, 1996).

I Rotavirus, appartenenti alla famiglia delle reoviridae, furono descritti per la prima volta nel 1969 da Mebus e coll., che li isolarono in un vitello del Nebraska e per i loro caratteri morfologici, vennero inizialmente definiti "Reo-like" ed etichettati con la sigla NCDV (Neonatal Calf Diarrhoea Virus). Al microscopio elettronico vengono assimilati, per la loro forma, ad una ruota di carro e da questo deriva il loro nome (dal latino rota). Si tratta di un virus a simmetria icosaedrica, che presentano un doppio capsido ed un core, ma sono privi di envelope. Il virione ha un diametro di 70nm, che si riduce a 55nm quando manca lo strato capsidico esterno; in quest'ultimo caso si parla di forme rugose R, in quanto mancanti dello strato che ne rende il margine liscio. Possiedono RNA a doppio filamento e segmentato in 11 frammenti, ognuno dei quali codifica per una proteina; tra

queste, sei sono strutturali, costituenti il capsid virale (VP1, VP2, VP3, VP4, VP6, VP7) e cinque non strutturali (NSP1, NSP2, NSP3, NSP4, NSP5). Nel core sono contenute le proteine strutturali VP1, VP2 e VP3. La prima probabilmente è rappresentata dalla RNA polimerasi e la seconda da una nucleoproteina che costituisce l'antigene minore di sottogruppo. Ciascun capsid è formato da 132 capsomeri; quello interno è costituito da 780 molecole della VP6, organizzate in trimeri a costituire dei fori messi in comunicazione da larghi canali con analoghi fori sul capsid esterno. Lo strato capsidico esterno è costituito da 120 molecole di VP4 e 780 molecole di VP7; la prima è organizzata in dimeri a formare 60 spikes e rappresenta l'emoagglutinina e il sito di adsorbimento. La VP7 è il costituente principale dello strato capsidico esterno, consente l'adsorbimento ai recettori cellulari e costituisce l'antigene maggiore di neutralizzazione (Jin-an et al., 1992). I Rotavirus presentano replicazione interamente nel citoplasma, con formazione di caratteristici corpi inclusi; questo è possibile grazie alla presenza, nelle particelle virali, di tutti gli enzimi necessari alla sintesi proteica ed alla replicazione dell'acido nucleico (il più importante dei quali è l'RNA polimerasi-RNA dipendente). Dopo aver aderito alla cellula con un meccanismo recettore-mediato, il virus entra attraverso la membrana citoplasmatica, dopo che la VP4 è stata modificata enzimaticamente dalla tripsina; in seguito la catena a polarità negativa di ogni segmento viene trascritta nel citoplasma della trascrittasi virale per produrre RNAm. Questo serve sia per la sintesi delle proteine, sia da stampo per codificare il genoma virale a doppia catena della progenie. Prima sono convogliate le particelle di RNAm positivo nel core (con formazione di particelle immature) e solo dopo viene sintetizzato l'RNA negativo. Ne consegue che l'RNA sia sempre avvolto da proteine e quindi i Rotavirus si dimostrano pessimi induttori di interferone. Le particelle progene, in natura, gemmano attraverso il reticolo endoplasmatico rugoso (RER) e acquistano momentaneamente un envelope; dopo che la glicoproteina maggiore del capsid esterno è stata prodotta e secreta, l'envelope viene distrutto e la VP7 si assembla per completare lo strato proteico che costituisce il

capside esterno. La proteina NSP4, non strutturale, viene sintetizzata nella cellula infetta e si integra nella membrana del RER dove, legando la VP6, funge da recettore del virione privo dello strato capsidico esterno e modula la gemmazione dei virioni immaturi. Secondo recenti studi, inoltre, sarebbe dotata di un'azione enterotossica e questo spiegherebbe la diversa patogenesi dei differenti Rotavirus (Estes and Cohen, 1989).

Sebbene morfologicamente indistinguibili, i Rotavirus sono classificati in diversi elettroferogruppi, siero gruppi, sub gruppi e sierotipi-genotipi. Gli elettroferogruppi rappresentano diversi patterns dovuti alla migrazione dei segmenti di RNA in gel di poliacrilamide (Holmes, 1996). I sierogruppi e sub gruppi sono basati su specificità antigenica, dove la VP6 gioca un ruolo preponderante. In natura sono stati individuati 7 siero gruppi, identificati con le lettere da A a G; il sierotipo A, primo ad essere isolato e più diffuso (ad esso appartengono tipicamente i Rotavirus che infettano i bovini), è stato ulteriormente distinto in due sub gruppi (I e II). I sierogruppi sono antigenicamente distinguibili mediante immunofluorescenza, immunoelettromicroscopia ed ELISA. La specificità di altre due proteine capsidi che, VP7 e VP4, è usata per classificare i Rotavirus del gruppo A in diversi sierotipi-genotipi: la prima identifica il G-tipo (glicoproteina), mentre la seconda identifica il P-tipo (protease sensitive). Il tipo G è stato più largamente studiato ed il 14G-types è stato identificato in animali e uomini. (Arnaudo, 2009; Buonavoglia e Compagnucci, 1998).. Attualmente si riconoscono 11P-tipi e 14G-tipi (Arnaudo, 2009; Kapikian and Chanock, 1996).

Epidemiologia: il virus si trasmette prevalentemente per via orizzontale (ciclo fecale-orale). Si ammettono forme di trasmissione indiretta attraverso utensili, mangimi e attrezzi inquinati da feci infette; è da escludere sia la trasmissione attraverso vettori invertebrati ematofagi, sia quella trans-placentare, poiché la malattia non presenta fasi viremiche. I più importanti diffusori di contagio sono i soggetti con manifestazioni morbose in atto; ad essi si aggiungono gli animali convalescenti che, rimanendo a lungo escretori, assumono importanza fondamentale nella persistenza

dell'infezione in allevamento. La malattia si manifesta per lo più nei mesi freddi e in condizioni di umidità percentuale elevata; colpisce gran parte degli animali presenti in allevamento, ma la sintomatologia clinica prevale in quelli giovani, sprovvisti di anticorpi mucosali a livelli intestinale. Negli adulti il virus è in grado di replicare senza provocare sintomi, per cui essi risultano molto efficienti ai fini della diffusione del contagio e della persistenza del virus in allevamento.

Il risanamento degli ambienti che hanno ospitato animali infetti si presenta difficoltoso per la notevole resistenza del virus alle variazioni di pH e ai comuni disinfettanti, per cui gli animali che vengono introdotti, anche a distanza di tempo, sono da ritenere a rischio. Infine non va sottovalutata la possibilità, provata solo sperimentalmente, di una trasmissione interspecifica (De Verdier., 1999).

Per quello che riguarda il bovino, i siero-tipi predominanti sono i G6 e G10 (Snodgrass et al., 1990), sebbene siano anche stati descritti diversi casi d'infezione da G1, G2, G3, G7, G8, P6, P7 e P8 (Buonavoglia and Compagnucci, 1998).

Patogenesi: il virus, assunto per ingestione o tramite aerosol, si localizza elettivamente nelle cellule epiteliali dei villi del piccolo intestino, alle quali aderisce per la presenza di specifici recettori di superficie. La replicazione provoca lisi progressiva delle cellule cilindriche, che vengono quindi sostituite da cellule cuboidali. Il fenomeno può anche essere interpretato come un meccanismo di protezione, in quanto queste ultime cellule mancano dei recettori specifici per il virus, facendo sì che l'infezione sia autolimitante. L'evoluzione patogenetica delle rotavirosi potrebbe pertanto trovare spiegazione nella sostituzione di cellule altamente differenziate da parte di cellule immature, le quali, in corso di diarrea, accelerano la loro migrazione verso l'apice dei villi, ma restano scarsamente differenziate, soprattutto riguardo alla presenza di enzimi specifici quali la disaccaridasi, Na-ATPasi e K-ATPasi. Ciò determina difetti di trasporto di calcio e potassio e malassorbimento, oltre alla persistenza di zuccheri non digeriti nel lume intestinale. Questi ultimi vengono metabolizzati dai batteri intestinali e trasformati in acidi grassi a catena corta. Conseguono

aumento della pressione osmotica nel lume con richiamo di liquidi, diarrea e disidratazione. In definitiva, le alterazioni della mucosa intestinale, indotte dai Rotavirus, ne modificano le attività specifiche e favoriscono l'assorbimento dei metaboliti tossici derivanti dalla fermentazione degli idrati del carbonio, alla quale spesso concorrono anche patogeni secondari quali *E. coli*, *Salmonella* spp. e altri (Arnaudo, 2009; De Verdier, 1999). Infine bisogna ricordare la presenza di meccanismi patogenetici recentemente descritti, quali l'enterotossina rotavirale (Ball et al., 1996). La guarigione dall'infezione probabilmente si verifica grazie a diversi meccanismi: enterociti immaturi e refrattari, peristalsi intestinale, produzione di interferone, reazioni umorali e cellulo-mediate dell'animale (De Verdier, 1999).

Caratteri della malattia: il quadro clinico è simile in tutte le specie animali ed è in sostanza sovrapponibile a quello di altre enteropatie. Nei bovini infetti dal gruppo A (BRV), la diarrea compare nei vitelli tra 4 e 14 giorni di età, dopo un periodo di incubazione di 1-4 giorni e persiste circa 3-7 giorni. Questa predilezione di età è probabilmente dovuta al fatto che molte bovine secernono anticorpi contro Rotavirus nel loro colostro, i quali conferiscono una protezione locale contro l'infezione nel vitello; questa viene però meno quando i livelli di anticorpi nel latte declinano, dopo 48 o 72 ore dal parto. Gli animali si dimostrano anoressici, depressi e nel caso in cui i sintomi persistano, disidratati. Le feci, in un primo tempo pastose, poi acquose, hanno colorito bianco-grigiastro, o giallastro o verdastro, a seconda della dieta. Frequente è anche l'emissione di muco e sangue, mentre l'ipertermia è intermittente o assente. Il decorso varia da 4 a 8 giorni, con tasso di mortalità che può raggiungere valori del 50%, soprattutto in concomitanza di infezioni batteriche secondarie. L'esame anatomico patologico mette in evidenza un quadro caratterizzato da scadente stato di nutrizione, grave disidratazione, enterite catarrale acuta, linfadenomegalia meseraica, ipertrofia delle placche del Peyer e modica splenomegalia. Dal punto di vista istologico la mucosa appare infiltrata da linfociti e macrofagi, mentre i follicoli linfatici appaiono iperplastici.

Ad una graduale atrofia dei villi intestinali, si associa ipertrofia delle cripte. Cellule desquamate si rinvengono in gran numero nel lume intestinale, nei linfonodi meseraici è presente edema con distacco delle cellule di rivestimento dei seni. La microscopia elettronica mette in evidenza residui del virus solo nelle cellule cilindriche della mucosa e non in quelle cubiche che hanno sostituito gli enterociti lesionati (Arnaudo, 2009; De Verdier, 1999).

Elementi diagnostici: solo gli esami di laboratorio possono fornire una diagnosi eziologica certa, in quanto, come si è visto sia la sintomatologia, simile a quella di numerose affezioni intestinali, che il quadro anatomico patologico, spesso alterato da infezioni batteriche, non permettono una differenziazione da altre enteropatie. Bisogna comunque ricordare che le rotavirusi vengono inquadrati nel gruppo della diarrea neonatale, patologia multifattoriale, ed assumono particolare importanza soprattutto nell'allevamento bovino, per il quale sono stati preposti alcuni elementi utili ai fini della diagnosi differenziale, quali: l'età (la Rotavirusi si osserva entro i primi 15 giorni di vita, la coronavirusi dai 5 ai 30 giorni, la parvovirusi fino a 6 mesi, ma naturalmente in campo la situazione è molto meno precisa) e la natura istopatologica delle lesioni. Infatti nella rotavirusi si osservano lisi e necrosi delle cellule apicali dei villi, mentre quelle delle cripte appaiono lievemente iperplastiche; nella coronavirusi le lesioni si estendono per tutta la lunghezza del villo e le cellule delle cripte appaiono notevolmente iperplastiche; nella parvovirusi si riscontra invece una completa aplasia delle cellule delle cripte e il processo rigenerativo risulta notevolmente compromesso (Buonavoglia e compagnucci, 1998). La diagnosi necroscopica, mediante l'ausilio dell'esame istologico, volge ad identificare le lesioni intestinali tipiche dell'infezione; è importante esaminare più vitelli dello stesso allevamento per ottenere un campione rappresentativo. I risultati migliori si ottengono quando l'animale si trova nelle prime fasi della malattia e quando questo è esaminato rapidamente dopo la morte.

I test di laboratorio più comunemente utilizzati sono rivolti a evidenziare la presenza del virus nelle feci: colture cellulari, microscopia elettronica, immunofluorescenza, ELISA, elettroforesi su gel di poliacrilamide, PCR. Una volta che l'agente è stato identificato, uno dei principali problemi è l'interpretazione della misura in cui questo sia responsabile della diarrea nell'individuo o nell'intero allevamento, poiché molti agenti possono essere trovati in animali ed inoltre le infezioni multiple sono comuni. Il ruolo di un agente infettivo può essere parzialmente dedotto escludendo la presenza di altri agenti riconosciuti come enteropatogeni e mediante la risposta dell'animale ad una specifica terapia (Smith et al., 1996).

Prevenzione: per la massiccia contaminazione derivante dalla presenza di animali malati e per i caratteri di resistenza del Rotavirus, la profilassi sanitaria può essere volta solo a realizzare una riduzione della carica infettante negli ambienti di allevamento. Ciò si ottiene attraverso l'impiego di disinfettanti a base di formalina, l'aggiustamento su livelli ottimali dei parametri di temperatura ed umidità ed un elevato standard sanitario generale. Inoltre, poiché il periodo di massima recettività corrisponde ai primi 15 giorni di vita, lo stato immunitario del neonato è decisivo per la comparsa o meno della malattia. Nel caso di rotavirus si può pertanto fare affidamento solo all'immunità passiva di derivazione materna e, più in particolare, sulla presenza di IgA ad azione locale (peraltro scarse nei bovini) nel colostro e nel latte. Queste resistono agli enzimi proteolitici e pertanto possono agire direttamente sul virus presente nel lume intestinale. Da ciò deriva che la protezione della malattia sia assicurata dall'esistenza di una buona immunità materna e dall'assunzione precoce ed abbondante di colostro (De Verdier, 1999). A sua volta l'immunità materna può essere artificialmente stimolata mediante vaccinazione da eseguire nell'ultimo terzo di gestazione (Arnaudo, 2009; Smith et al., 1991).

Coronavirus

I coronavirus bovini (BCV) sono considerati responsabili di tre sindromi distinte. La dissenteria neonatale nei vitelli, la “Winter Dysentery” dei bovini adulti ed infezioni del tratto respiratorio. Questi virus vennero identificati per la prima volta da Mebus nel 1972 ed in seguito associati a queste tre patologie dei bovini (Arnaudo, 2009).

Il coronavirus appartiene alla famiglia coronaviridae, genere coronavirus, gruppi II, ha forma sferica e diametro variabile tra gli 80 e i 160nm; è circondato da un envelope dotato di caratteristici peplomeri a forma di petalo, la frangia di tali proiezioni, al microscopio elettronico, ricorda la corona solare (suggerendo così il nome della famiglia). Come tutti gli appartenenti a questa famiglia, sono dotati di elevata specie-specificità e di un tropismo piuttosto ristretto verso determinati tessuti. Risultano molto sensibili al calore, alla luce solare, ai solventi dei lipidi ed ai disinfettanti, mentre sopravvivono a lungo alle basse temperature (Arnaudo, 2009, Clark, 1993).

Il nucleo capsidico elicoidale è costituito da una proteina (N) ricca di amminoacidi basici, che avvolge l'unico filamento di RNA a valenza positiva (pertanto direttamente infettante). Le altre proteine strutturali sono inserite sull'envelope, tutte glicosilate e transmembrana. La matrice, un tempo detta E1, è una proteina transmembrana che attraversa il doppio strato lipidico più volte, ripiegandosi su se stessa. Origina da una proteina precursore e solo in seguito viene glicosilata grazie all'aggiunta di uno o due oligosaccaridi; sporge dalla superficie esterna solo con una piccola porzione no-terminale glicosilata, mentre la porzione centrale forma tre α -eliche idrofobiche frammiste ai lipidi di membrana. La porzione carbossi-terminale sporge all'interno dell'envelope, con la funzione di legare il nucleocapsidico a questo durante l'assemblaggio. Eventuali anticorpi contro questa proteina risultano neutralizzanti solo in presenza di complemento. La S (spike) o E2, costituisce i peplomeri a forma di petalo, che sporgono quasi completamente all'esterno, essendo ancorati alla membrana lipidica solo per una piccola porzione; deriva da un precursore che presenta

un sito di clivaggio a livello degli aminoacidi 764-768, dove agisce la peptidasi con formazione della sub unità S1 e S2, le quali ne rappresentano rispettivamente la porzione N-terminale e C-terminale. Svolge la funzione di sito di adsorbimento aderendo a recettori glicoproteici della membrana cellulare e condiziona la fusione dell'envelope con le membrane stesse, come anche la fusione delle membrane di cellule infette contigue (formazione di sincizi). Induce la formazione di anticorpi neutralizzanti e durante la replicazione viene spesso prodotta in eccesso e veicolata sulla membrana citoplasmatica, rendendo la cellula sensibile alla citotossicità cellulo-mediata. L'HE o E3 rappresenta l'emoagglutinina, responsabile dell'induzione di emoagglutinazione ed emoadsorbimento. Ha struttura dimerica e si lega a recettori specifici delle membrane cellulari, funzione acetilsterasica in quanto contiene un receptor destroying enzyme (RDE), che inattiva i recettori degli enterociti per il virus; l'attività di questo enzima permette l'eluizione del virus della membrana dei globuli rossi quando la temperatura raggiunge i 37°C. L'RDE è probabilmente coinvolto nelle fasi iniziali di replicazione del virus, in quanto si è visto che l'inibizione di questo riduce l'infettività.

L'adsorbimento, mediante S e HE, è seguito dalla fusione dell'envelope, a pH neutro, con liberazione nel citoplasma dell'RNA genomico, che comportandosi da RNAm, porta alla sintesi di una RNA-polimerasi-RNA dipendente. Questa sintetizza un RNA(-), che funge da stampo per la sintesi di altri 7 RNAm di lunghezza sub genomica, i quali sono tutti sovrapposti in modo scalare (nested RNA), nel senso che hanno in comune l'estremità 3' e ognuno di essi comprende tutti i geni del precedente, più uno aggiuntivo verso il terminale 5'. La formazione dei vari RNAm, è guidata da una sequenza leader presente sul terminale 5' dell'RNA genomico, che rimane legata alle RNA-polimerasi e funziona come primer della trascrizione. Ogni RNAm codifica per una o più proteine strutturali e non (enzimi). Solo la sequenza unica verso il terminale 5' di ciascun RNAm, non presente sul precedente più breve, viene tradotta. Inoltre il filamento stampo negativo, serve anche

per la sintesi dei filamenti (+) per la progenie. La formazione delle particelle complete avviene a livello delle vescicole del RER e dell'apparato di Golgi con la membrana cellulare, dove si completa la glicosilazione delle proteine; infine virus escono dalla cellula per fusione delle vescicole del Golgi con la membrana cellulare, oppure, nei ceppi citopatogeni, per lisi cellulare e/o formazione di sincizi (Arnaudo, 2009; Clark, 1993).

Dissenteria neonatale dei vitelli:

Patogenesi: è stata descritta da numerosi ricercatori e ricorda molto quella da rotavirus. Il contagio avviene sia per via orale, attraverso la contaminazione fecale di capezzoli, alimenti, acqua e altri fomenti, sia per via respiratoria; il virus si localizza negli enterociti del piccolo intestino e nelle cellule di rivestimento del colon, dove replica intensamente. Le cellule infettate muoiono, si staccano e vengono rimpiazzate da cellule immature; nel piccolo intestino questo cambiamento porta a ipotrofia e fusione dei villi adiacenti, mentre nel grosso intestino si assiste ad un progressivo appiattimento. Le cellule colonnari sono rimpiazzate da cellule cuboidali o addirittura squamose e, nelle infezioni gravi, vi possono essere aree di desquamazione. Tutto questo porta ad una riduzione della superficie assorbente dell'intestino; inoltre le cellule immature conservano alcune capacità secretorie, portando ad un ulteriore aumento del volume di fluidi nel lume, ma allo stesso tempo non sono in grado di produrre enzimi digestivi. Il lattosio indigerito si accumula nell'intestino, portando ad un aumento dell'attività microbica ed ad uno squilibrio osmotico con ulteriore passaggio di acqua nel lume. Il risultato finale è la diarrea con perdita di acqua ed elettroliti e le possibilità di gravi conseguenze quali, disidratazione, acidosi ed ipoglicemia. In genere l'infezione è autolimitante poiché il virus non attacca le cellule delle cripte, la cui attività mitotica aumenta producendo cellule immature resistenti, che migrano a sostituire quelle danneggiate. La severità dei segni clinici dipende dall'età, dallo stato immunitario dell'animale e dalla dose infettante; infatti si

sviluppa una diarrea più rapida e più severa negli animali molto giovani o privi di colostro (Arnaudo, 2009; Clark, 1993; Smith, 1980).

Epidemiologia: si tratta di una diarrea che interessa tipicamente animali tra i 5 ed i 30 giorni di vita, si sviluppa circa 48 ore dopo l'infezione e continua per 3-6 giorni, durante i quali il virus può essere riscontrato nelle feci. Gli animali risultano anoressici, a volte presentano ipertermia e disidratazione, ed emettono abbondanti feci liquide di colore giallastro (sempre variabile in funzione dell'alimentazione).

I BCV sono stati individuati in molti paesi e probabilmente sono distribuiti in tutto il mondo; anticorpi sierici contro di loro possono essere riscontrati nella maggioranza dei bovini adulti ed il virus può venire individuato sia in vitelli diarroici (frequentemente con altri enteropatogeni), sia sani. La malattia è prevalente durante i mesi invernali, per l'elevata capacità del virus di sopravvivere a basse temperature ed in genere si presenta per anni successivi, in quanto questo può rimanere infettante nell'ambiente di anno in anno. Inoltre sono molti gli animali adulti persistentemente infetti, che non presentano segni clinici ed agiscono come fonte di infezione, liberando alte cariche virali, in particolari nei mesi invernali in seguito al parto (Arnaudo, 2009; Lu et al., 1991; Smith, 1996).

Elementi diagnostici: la diagnosi non si può basare sui soli segni clinici per l'assoluta assenza di specificità; inizialmente veniva utilizzata l'elettromicroscopia, ma questa tecnica è complicata e costosa. Anche l'isolamento virale su colture cellulari è poco utilizzato; alcuni test diagnostici si basano poi sulle proprietà emoagglutinanti del BCV. Attualmente viene invece largamente applicato l'ELISA su campioni fecali, la quale, grazie all'utilizzo di anticorpi monoclonali, assicura un'elevata specificità. Anche la necropsia associata ad un esame istologico di campioni intestinali trova larga applicazione.

Prevenzione: gli animali infetti dovrebbero essere isolati e spostati in un'area pulita con lettiera nuova. Punto fondamentale rimane però la prevenzione, che si può raggiungere assicurando un adeguato livello di anticorpi specifici nel lume intestinale del vitello; questi derivano dall'immunità passiva proveniente dal colostro e dal latte. Molto importanti sono le IgG1, che derivano largamente dal siero, mediante il trasporto attivo a livello della ghiandola mammaria ed il cui livello raggiunge l'apice al momento del parto e poi declina rapidamente (Arnaudo, 2009; Clark, 1993).

Escherichia coli

Famiglia delle enterobatteriaceae e più precisamente appartenente al gruppo dei lattosio fermentanti, ha forma allungata e diritta, dimensioni di 1,1-1,5x2,0-6,0µm. Normalmente tali batteri sono disposti in singoli elementi o accoppiati, sono Gram negativi, anaerobi facoltativi, a metabolismo sia respiratorio, sia fermentativo. Fanno parte della normale flora intestinale di tutti i mammiferi come commensali, ad eccezione di alcuni ceppi che sono patogeni. Quasi sempre mobili per la presenza di flagelli peritrichi, si presentano dotati di una capsula polisaccaridica quando isolati al di fuori dell'intestino, la quale determina la fase S delle relative colonie (le forme prive di capsula danno la fase R). Sono dotati di antigeni somatici O (di cui si conoscono 171 tipi diversi) capsulari K (80 tipi) flagellari H (56 tipi) e antigeni di fimbria F. Alcuni tra questi ultimi svolgono una specifica azione patogena: permettono di aderire alle cellule intestinali e di colonizzare l'intestino tenue. Di questi vanno ricordati l'antigene F4 (ex K88), l'antigene F5 (ex K99), l'antigene F41 e l'antigene F17. Per quel che riguarda l'ambito veterinario, quelli più frequentemente riscontrati sono gli antigeni F4 (maggiormente nei ceppi derivanti dal maiale) ed i ceppi F5 (ceppi di vitello, agnello e suino). Oltre ai precedenti fattori di colonizzazione, l'attitudine

patogena è mediata anche dall'elaborazione di sostanze tossiche da parte di alcuni ceppi di E. coli (Ruffo, 1998).

All'interno di questo genere, infatti possono essere individuati diversi ceppi, responsabili di differenti forme morbose.

- ceppi Entero-invasivi (EIEC): aderiscono, invadono e distruggono gli enterociti, causando perdita di parte della mucosa intestinale. In seguito raggiungono il sistema linfatico, dove si moltiplicano; alcuni muoiono e rilasciano endotossine. Sono responsabili di setticemie e tossiemie. Appaiono raramente nei vitelli.

- Ceppi Entero-patogeni (EPEC): non sembrano produrre enterotossine, ma sono in grado di causare enterite e diarrea, in quanto dotati di un fattore di adesività che determina la distruzione dei microvilli degli enterociti (Doll, 2004).

- Ceppi entero-adesivi (EAEC): colonizzano l'intestino aderendo tenacemente all'apice delle cellule con meccanismo detto "attaching and effacing". I microvilli sono distrutti e la membrana citoplasmatica prende una forma a coppa di champagne. Le cellule villose si desquamano singolarmente o a placche (da qui il termine effacing = cancellazione), i villi si atrofizzano e si hanno microerosioni. La diarrea consegue quindi a mal digestione e malassorbimento.

- Ceppi Enteroemorragici (EHEC): producono 2 citotossine simili a quelle di Shigella, denominate Shiga-like o verocitotossine (stx1 e stx2), che danneggiano le cellule degli endoteli dei vasi sanguigni intestinali, con conseguente emorragia. Producono intimina per l'adesione dei villi intestinali ed enteroemolisina (codificata dal gene Ehly) che sembra aumentare l'azione delle

stx (Barret et al., 1992; Lee et al., 2008; Schmidt et al., 1995). Colpiscono gli enterociti del colon e a volte della porzione distale del piccolo intestino; il risultato è una colite muco-cattarrale, con petecchie ed ecchimosi (soffusioni emorragiche) sulla parete di colon e retto, disidratazione, occasionalmente dolore addominale manifestato alla palpazione con contrazione dei muscoli della parete addominale. Gli EHEC sono F5 negativi, possono colpire vitelli di età compresa tra i 2 giorni e le 2 settimane, probabilmente perché in seguito la loro crescita è inibita dal rumine contenente acidi grassi volatili e dal pH abomasale basso (Lee et al., 2008). I sierotipi ritenuti patogeni per il vitello sono principalmente O26 e O111 (Lee et al., 2008, Sandhu and Gyles, 2002). L'incidenza di questo tipo di diarrea sta aumentando in alcune aree ed i vitelli rappresentano un importante reservoir per i *E. coli* O157-H7 che causano coliti emorragiche e sindromi uremiche emolitiche negli uomini (Griffin, 1995; Lee et al., 2008; Tamura et al., 1996). I vitelli infettati con questo batterio sviluppano enterocolite con lesioni attaching and effacing e diarrea, poco si sa sul potere patogeno in natura verso i giovani bovini, anche se diversi studi sottolineano la sua patogenicità nei confronti dei vitelli, ma non nei confronti degli adulti (Arnaudo, 2009; Dean-Nystrom et al., 1997; Kang et al., 2004).

- Ceppi Enterotossigeni (ETEC): sono provvisti di adesine (F4, F5 ed altre) che permettono di aderire alla superficie dell'epitelio intestinale, opponendosi così alla rimozione da parte della peristalsi. Dopo la colonizzazione, questi batteri producono 1 o 2 enterotossine. La prima, termolabile (LT), agisce stimolando la produzione di adenilatociclastasi che a sua volta determina un accumulo di AMPc con conseguente secrezione di liquido, sodio e cloro nel lume

intestinale. La seconda tossina, termostabile (ST), agisce analogamente, per stimolazione della guanilatociclastasi. L'effetto finale di tali azioni è quindi l'instaurarsi di diarrea. Rappresentano la causa batterica di diarrea più importante nei vitelli, durante la prima settimana di vita (Arnaudo, 2009; Doll, 2004).

Patogenesi, forma clinica e quadri anatomo-patologici: l'infezione da *Escherichia coli* è diffusa in tutti i paesi con allevamento intensivo di bovini e la gravità aumenta dove i metodi di allevamento sono stati intensificati. Presenta diversi quadri sintomatologici e può causare gravi perdite, specialmente durante i mesi invernali e nei grandi allevamenti, per morte di animali, spese veterinarie e ridotta produttività dei guariti. Per lungo tempo si è ritenuto che la colibacillosi fosse un'infezione intestinale primaria nella quale questi batteri commensali del crasso, in presenza di determinate condizioni (carenza vitaminica, sovraccarico latteo, raffreddamento), pervengono nel digiuno ove svolgono azione tossica, oppure attraversano la parete intestinale penetrando nel torrente circolatorio con gravi affezioni generalizzate. Mediante ulteriori ricerche si è però giunti ad affermare che, perlomeno per la forma setticemica, sono responsabili solamente determinati ceppi, i quali possono penetrare nell'organismo per via parenterale. Si è rilevato inoltre che una ipogammaglobulinemia o un'ipogammaglobulinemia hanno influenza determinante per lo sviluppo di tale malattia. Non è ancora chiarita la ragione per cui, in condizioni naturali, parte dei vitelli (10-12%) malgrado l'assunzione di colostro, presentino livelli insufficienti di anticorpi. Le ipotesi sono diverse, come l'assunzione tardiva di colostro oppure quantitativamente insufficiente, un tenore di anticorpi del colostro basso, oppure disturbi dell'assorbimento intestinale del vitello. Anche per le forme a decorso non setticemico, sono diversi i fattori importanti nel corso della malattia, quali il ceppo di batteri in causa, alimentazione

carenziale della madre, stalle umide, fredde, bevande sporche o troppo fredde. I quadri clinici maggiormente riscontrati sono:

- forme colisetticemie: parecchi vitelli si ammalano di questa forma nelle prime ore o nei primi due giorni di vita, uno dei fattori predisponenti risulta essere una carenza di IgM colostrali. I batteri si moltiplicano nel tubo digerente e diffondono attraverso il torrente circolatorio con liberazione della endotossina responsabile dell'azione anafilattica, che causa shock ed altri sintomi. I vitelli presentano depressione intensa, mucose congeste, tachipnea e tachicardia, anoressia, ipopion, artriti e talvolta diarrea acquosa.emorragica. la temperatura di solito è aumentata solo di pochi gradi ed a volte si hanno sintomi di colica o meteorismo del rumine. Presto i vitelli diventano paraplegici, sporadicamente con disturbi a carico del sistema nervoso centrale, con spasmi, opistotono, atassia e midriasi, sintomi attribuibili ad una meningite di origine setticemica. La terapia generalmente è inefficace e la prognosi è infausta. Gli animali deceduti presentano lesioni localizzate di tipo congestizio a carico dell'apparato digerente, in particolare dell'abomaso, con arrossamenti e piccole emorragie. Lesioni sovrapponibili si hanno, nel tenue dove il contenuto è fluido, talvolta sanguinolento, con coaguli di caseina. I linfonodi mediastinici sono tumefatti ed emorragici mentre le sierose sono congeste. Vista la rapidità dell'evoluzione clinica è fondamentale la profilassi, attuata mediante vaccinazione delle gestanti con i ceppi predominanti localmente (Arnaudo, 2009; Smith et al., 1991).

- Forme enterotossiemiche: compaiono nella prima settimana di vita (in particolare nei primi 4 giorni) e portano a morte rapida l'animale per moltiplicazione di coli enteropatogeni nel tratto medio e distale del tenue. Si tratta

di sierotipi dotati del fattore di adesività F5 (K99). L'infezione avviene per via orale nei neonati, nei quali il pH gastrico, ancora neutro, consente ai batteri di giungere nell'intestino, colonizzarlo e produrre endotossine, responsabili di diarrea, disidratazione ed acidosi. Il corso della malattia è rapido e il vitello può passare da uno stato di apparente benessere a decubito e morte in sole 12 ore; a volte è possibile rilevare debolezza, prima che si osservino segni di diarrea. La diagnosi si attua con isolamento di *Escherichia coli* nelle feci o rilevamento dell'antigene F5. anche in questo caso risulta fondamentale la profilassi con vaccinazione delle gestanti (Arnaudo, 2009).

Elementi diagnostici: una diagnosi eziologica assume ancora maggiore importanza nella diarrea di origine batterica, in quanto permette di scegliere una terapia mirata ed una strategia preventiva. La diagnosi necroscopica punta a dimostrare la presenza di lesioni tipiche causate dal microrganismo. È inoltre possibile effettuare una coltura del microrganismo per determinarne il biotipo in base alle caratteristiche metaboliche. È importante inoltre dimostrare la presenza dell'antigene F5 mediante metodiche ELISA o test di immunofluorescenza (Arnaudo, 2009; Smith et al., 1991).

Cryptosporidium

Questo genere di protozoi comprende diverse specie in grado di parassitare mammiferi, uccelli, rettili e pesci. Rimasti pressoché sconosciuti fino agli anni ottanta, sono poi stati imputati come causa di diarrea neonatale nel vitello e nell'uomo. Sono in grado di infettare molti mammiferi domestici (le specie che colpiscono i mammiferi sono morfologicamente indistinguibili); nell'uomo, in particolare agli immunodepressi, provocano diarrea acquosa, crampi addominali, flatulenza e cefalea (Arnaudo, 2009; O'Donoghue, 1995).

Negli uccelli si verifica un coinvolgimento del sistema respiratorio e gastroenterico, mentre l'intestino risulta il sito prediletto nei ruminanti. La cross-infezione tra topi, ovini, bovini e suini è ritenuta possibile, essendo questi protozoi privi di specie-specificità.

Nei ruminanti tre specie sono attualmente riconosciute come comuni cause di infezione: *Cryptosporidium parvum* è quella maggiormente studiata e colpisce principalmente gli individui neonati, colonizzando l'ileo e la porzione prossimale del grosso intestino. *Cryptosporidium andersoni* un tempo considerato parte della specie *Cryptosporidium murinis*, risiede nell'abomaso ed è stato isolato esclusivamente in bovini adulti. Recentemente è stata identificata una terza specie, *Cryptosporidium bovis*, morfologicamente identico a *Cryptosporidium parvum*, ma patogeno per vitelli di età compresa tra i 2 ed i 7 mesi (O'Handley et al., 1999).

Attualmente questo parassita risulta essere l'agente causale di diarrea più diffuso tra i vitelli da carne (allattati dalla madre) (Fournier and Muriel, 2007).

I parassiti invadono gli enterociti della porzione distale del piccolo e grosso intestino, anche se la patologia risulta normalmente più severa quando colpisce il tenue ed è caratterizzata da atrofia dei villi e/o loro fusione, mentre nel corso della malattia sono riscontrate anche reazioni infiammatorie della mucosa. La diarrea è il risultato dell'atrofia dei villi e porta a perdita di funzionalità della barriera intestinale, malassorbimento e di conseguenza fermentazione nel latte che permane nel lume (Arnaudo, 2009; Klein et al., 2008).

Vengono colpiti prevalentemente gli animali di età compresa tra 1 e 4 settimane ed in certe stalle l'eliminazione di oocisti può essere riscontrata anche nel 100% dei vitelli (De Graaf et al., 1999); altri studi riportano una prevalenza del 15-59% in vitelli tra 0 e 24 giorni di vita (Olson et al., 1997^o; Olson et al., 1997b). Le feci si presentano di consistenza

variabile, da pastosa ad estremamente acquosa e possono contenere latte indigerito, sangue, muco e talvolta bile (Klein et al., 2008); non è raro il riscontro di tenesmo. Sebbene la malattia sia normalmente caratterizzata da un'elevata morbilità, ma bassa mortalità, l'autoinfezione è un'evenienza piuttosto frequente, così da portare all'instaurarsi di infezioni protratte, che conducono a diarrea cronica e cachessia. La secrezione di oocisti nelle feci inizia contemporaneamente alla diarrea, normalmente persiste per alcuni giorni dopo la fine della fase diarroica, raggiungendo l'apice in sesta-settima giornata (Arnaudo, 2009; Klein et al., 2008).

Ciclo vitale e trasmissione: il ciclo vitale dei Criptosporidi è complesso, presentano sia una fase di riproduzione asessuata, sia una fase sessuata; per diversi aspetti ricorda il ciclo dei coccidi enterici, come *Eimeria spp.*, ad eccezione del fatto che le oocisti di *Cryptosporidium* si presentano nel lume intestinale già completamente sporulate, potendo così verificarsi l'autoinfezione. Nei ruminanti, in seguito all'ingestione delle oocisti infettanti, gli sporozoiti sono liberati e, nel caso di *Cryptosporidium parvum*, invadono l'epitelio intestinale (mentre *Cryptosporidium andersoni* colonizza l'abomaso). I parassiti continuano il loro sviluppo nella porzione apicale delle cellule epiteliali, nello spazio posto appena sotto la membrana cellulare, senza però invadere il citoplasma. In seguito si trasformano in trophozoiti, i quali vanno incontro a riproduzione asessuata, originando schizonti di tipo I. I merozoiti all'interno dello schizonte vengono rilasciati dalle cellule epiteliali ed in seguito invadono altre cellule dove ripetono questa riproduzione asessuata; in questo caso vengono prodotti due tipi di schizonti: quelli di tipo I rilasciano merozoiti che produrranno altri schizonti di tipo I e gli schizonti di tipo II che si differenziano in macrogameti femminili e microgameti maschili. I microgameti sono mobili e raggiungono i macrogameti fertilizzandoli per formare uno zigote; questo si sviluppa in oocisti con

formazione di una membrana esterna resistente e, dopo aver eseguito la sporogonia, al suo interno si ritrovano quattro sporozoitii infettanti. Una caratteristica importante sta nel fatto che vengono prodotte oocisti con parete spessa e oocisti con parete sottile: le prime sono estremamente resistenti e vengono liberate nell'ambiente tramite le feci, le seconde invece perdono la loro parete direttamente all'interno del lume intestinale e provocano l'autoinfezione. Le oocisti eliminate nell'ambiente sono immediatamente infettanti e i giovani ruminanti, durante la fase diarroica, possono liberarne più di 10 milioni per grammo di feci. Animali apparentemente sani possono eliminare fino a 720 milioni di uova al giorno (Scott et al., 1995); sebbene si sia dimostrato che metà delle oocisti liberate non siano vitali, la dose risulta sufficiente a diffondere l'infestazione (Bukhari and Smith, 1997). Ovviamente la trasmissione diretta per via fecale-orale è la più importante e come fonte d'infezione, anche perché la dose infettante di questi protozoi è estremamente bassa (30 oocisti). Inoltre la trasmissione è facilitata dall'estrema resistenza nell'ambiente delle forme infettanti, che possono rimanere vitali per diversi mesi, se si trovano in ambiente umido e fresco; risultano anche resistenti a livelli standard di clorazione delle acque e a diversi disinfettanti (O'Handley et al., 1997).

Segni clinici: i segni clinici della criptosporidiosi sono simili in vitelli, agnelli e bambini, includono diarrea, in genere di colore chiaro, letargia, anoressia e disidratazione. I segni clinici della malattia diventano evidenti tra i 3 ed i 5 giorni post infezione e la loro durata può variare da 4 a 18 giorni, risultando comunque risolti al ventunesimo giorno post infezione (Klein et al., 2008). Nei casi di severa criptosporidiosi l'animale può giungere ad una estrema disidratazione, acidosi metabolica e anche morte, sebbene quest'evenienza sia piuttosto rara nelle forme non complicate. La gravità della malattia viene influenzata da numerosi fattori quali: la dose infettante, lo stato immunitario dell'animale, la presenza di

infezioni secondarie o concorrenti, lo stato di nutrizione e levoluzione del parto (sebbene la criptosporidiosi risulti in genere una malattia di lieve entità se considerata singolarmente).

I segni clinici associati all'infezione intestinale sono il risultato del malassorbimento e dell'aumento delle secrezioni fluide, anche se l'esatto meccanismo con il quale agiscono questi protozoi non è ancora del tutto chiaro. Il risultato è l'atrofia o la fusione di alcuni villi, iperplasia delle cripte, distruzione dei microvilli intestinali ed infiltrazione di cellule infiammatorie nella parete. Tutto ciò ha come conseguenza il malassorbimento per perdita di superficie mucosale, perdita di enzimi di membrana ed alterazione dei meccanismi di trasporto di nutrienti ed elettroliti. Particolarmente rilevante risulta essere la perdita di vitamina A, che può esitare in una ipovitaminosi, specialmente nella fase acuta della malattia. In aggiunta, la presenza della tossina colera-like, secreta dal parassita, è ultimamente stata imputata come causa dello sviluppo di una diarrea di tipo secretorio; al protozoo è stata anche riconosciuta la capacità di indurre apoptosi cellulare e distruzione delle tight-junction epiteliali con perdita della funzione di barriera (Klein, 2008, Holland, 1992). La criptosporidiosi dell'abomaso, causata da *Cryptosporidium andersoni*, non provoca invece segni clinici di rilievo, ma causa solo lievi alterazioni della mucosa gastrica e delle ghiandole piloriche e peptiche, con leggero aumento del pH abomasale e del pepsinogeno nel plasma (Arnaudo, 2009).

Epidemiologia: l'infezione da *Cryptosporidium parvum* è stata osservata in ruminanti di soli tre giorni, ma è certamente più comune in animali di età compresa tra 1 e 4 settimane, mentre diventa rara una volta superato il mese di età. Il periodo di prepotenza nei ruminanti dura tra i 3 ed i 6 giorni e i vitelli possono presentare nelle proprie feci anche 10 milioni di oocisti per grammo durante il picco dell'infezione. La criptosporidiosi risulta comunque una patologia autolimitante, la cui durata in genere non supera le due settimane;

infatti, in seguito all'infezione, i giovani ruminanti sviluppano un'immunità contro *Cryptosporidium parvum*, che risulta efficace nel proteggerli da ulteriori infezioni (ed inoltre è stato dimostrato che la gravità della malattia associata al primo contatto con il parassita risulta sempre minore all'aumentare dell'età degli animali (De Graaf et al., 1999). Si è visto che, sebbene certi autori segnalino l'infezione come più frequente nei vitelli di razze da latte, i segni clinici sono sempre più severi in vitelli di razze da carne, nei quali la mortalità può raggiungere un massimo del 30%; questi animali si infettano con maggiore facilità assumendo il latte dai capezzoli della madre o tramite il contatto con le feci infette (Lorenzo, 1993; Scott et al., 1995).

Prevenzione e trattamento: i Cryptosporidi sono resistenti alla maggior parte degli agenti antimicrobici/anticoccidici e a molti disinfettanti, oltre a riuscire a sopravvivere nell'ambiente per lunghi periodi. Attualmente in Europa l'alofuginone lattato è stato registrato come chemioterapico per il trattamento della criptosporidiosi dei vitelli, alla dose di 60-125µg/kg per giorno durante la prima settimana di vita, risultando efficace nel ridurre la gravità e l'incidenza della diarrea e la quantità di oocisti escrete (ma senza però impedire l'infezione). Il trattamento preventivo deve iniziare entro le prime 48 ore di vita poiché l'infezione è sempre molto precoce (Lefay et al., 2001). Gli animali trattati presentano comunque una minima eliminazione di oocisti (pur rimanendo liberi da segni clinici), fatto importante per lo sviluppo di un'immunità specifica da parte dell'animale (Peters et al., 1993). La tollerabilità di questo prodotto appare buona se utilizzato alle dosi consigliate; è possibile riscontrare astenia e depressione in caso di dosaggio eccessivo (Yvorè and Naciri, 1989; Lefay et al., 2001). Non è invece stata completamente provata l'efficacia della paramomicina nella prevenzione dei sintomi clinici e nella riduzione dell'eliminazione di oocisti (Grinberg et al., 2002). Diverse tecniche di vaccinazione sono state sperimentate nei

bovini, sia immunizzazioni attive, sia passive, conseguendo solo in alcuni casi la riduzione della severità dei segni clinici ed il numero di oocisti escrete, ma neanche in questo caso riuscendo a prevenire del tutto l'infezione. Risulta quindi ovvia l'importanza di un approccio profilattico con l'uso di chemioterapici ed adeguate strategie di management quali: isolare gli animali con diarrea, pulire i locali prima di introdurre nuovi soggetti, cambiare frequentemente la lettiera, assumere abbondanti quantità di colostro nelle prime ore di vita, evitare il contatto tra bovini da carne e bovini da latte nel periodo dei parti (Arnaudo, 2009).

Diagnosi: la criptosporidiosi dovrebbe essere inclusa nelle diagnosi differenziali in tutti i casi di diarrea neonatale dei vitelli. Il metodo standard per rilevare la presenza di *Cryptosporidium parvum* è l'analisi coprologica con ricerca di oocisti; in genere si ricorre a flottazione in soluzione sature di zucchero ed acqua (soluzione di Scheerer) al fine di concentrare le oocisti, le quali possono essere colorate con la tecnica di Ziehl-Neelsen o con colorazione negativa con la carboflucina. Questi metodi sono poco costosi ma richiedono un operatore esperto. Le oocisti, osservate al microscopio (40X), appaiono rotonde, con un diametro variabile tra i 4 ed i 6µm, contenenti quattro sporozoitii infettanti (Smith et al., 1996). In aggiunta a questa tecnica, sono stati sviluppati numerosi Kits ELISA, basati su antigeni fecali, utilizzabili anche in campo. Inoltre, alcuni di questi Kits, permettono la contemporanea ricerca di Rotavirus, Coronavirus, *E. coli* F5 e *Cryptosporidium parvum*. Sono anche state sviluppate tecniche di laboratorio più complesse come la microscopia con l'utilizzo di immunofluorescenza e la PCR. Recentemente è a disposizione anche una metodica immunocromatografica (Dip-stick che riconosce *Cryptosporidium parvum*), rapida e comoda in condizioni di campo. La diagnosi immunosiero logica non è soddisfacente, poiché l'aumento del titolo di anticorpi specifici può essere rilevato solo dopo l'episodio

clinico d'infezione, quindi troppo tardivamente (Arnaudo, 2009; Doll, 2004; Geurden et al., 2004; Navarre et al., 2000; Quigley et al., 1997).

Cause non infettive

Nel primo periodo della vita extra uterina l'apparato digerente del vitello neonato è in grado di digerire ed assorbire le sostanze nutritive presenti nel latte materno: proteine quali caseina, albumine e globuline; grassi quali i trigliceridi emulsionati in piccole sfere, che contengono alta percentuale di acidi grassi a catena corta; i carboidrati come il lattosio ed i sali minerali.

Un tempo la diarrea provocata da cause nutrizionali era ritenuta piuttosto comune tra i vitelli, con l'identificazione delle cause virali e parassitarie l'uso di questa diagnosi è drasticamente diminuito, sebbene una correlazione tra dieta ed instaurarsi di forme infettive sia tuttora riconosciuta. Ad esempio i Rotavirus non producono diarrea in forma grave, ma l'atrofia dei villi da loro provocata ha come risultato la riduzione dell'assorbimento degli alimenti e questo predispone alla moltiplicazione dei batteri intestinali con conseguente fermentazione del latte nel grosso intestino. Inoltre, mediante diversi esperimenti, si è messo in risalto come vitelli in salute potessero succhiare grandi quantità di latte materno (dal 16% al 28% del proprio peso corporeo per giorno) senza sviluppare diarrea, mentre animali infettati con diversi patogeni enterici, se alimentati con normali apporti di latte materno (10% del peso corporeo), sviluppavano diarrea e depressione. Anche la composizione dei sostitutivi del latte, somministrati maggiormente ai vitelli di razze da latte, può comportare un problema in quanto si è visto che certi tipi di latte artificiale possono essere più difficili da digerire e contribuiscono all'instaurarsi della diarrea. Ad esempio si è dimostrato che i vitelli assorbono bene le proteine della soia quando sono in buona salute, durante un'infezione da patogeni enterici invece, mostrano migliore ripresa e bassa mortalità se alimentati con latte intero (Doll, 2004).

Casistica personale

Introduzione

Essendo la diarrea neonatale del vitello una patologia multifattoriale e riconoscendo di conseguenza diverse cause scatenanti (Barrington et al., 2002; Jayappa et al., 2008; Moon et al., 1978), è necessario che l'approccio al problema prenda in considerazione diversi punti critici. Lo scopo del presente studio è stato quello di valutare l'efficacia di un protocollo gestionale e vaccinale nella prevenzione della diarrea neonatale del vitello. Tale protocollo ha preso in considerazione i diversi fattori che possono contribuire allo sviluppo della patologia enterica.

- *Aspetto igienico-sanitario*: nel protocollo sono stati presi in considerazione i momenti in cui il vitello, dalla nascita al primo mese di vita, può venire a contatto con materiale potenzialmente veicolo di patogeni enterici.
- *Agenti eziologici*: un aspetto chiave nello sviluppo della diarrea è rappresentato dalla presenza di uno o più agenti patogeni, nel presente protocollo sono stati presi in considerazione 4 tra i più importanti agenti di diarrea neonatale: *Escherichia coli* F5 (K99); Rotavirus, Coronavirus e *Cryptosporidium parvum*.
- *Aspetto gestionale*: un altro punto importante preso in considerazione è stato quello della corretta gestione del colostro, della sua tempestiva somministrazione, eseguita con attrezzature e modalità adeguate.
- *Qualità del colostro*: per qualità del colostro ai fini della prevenzione della diarrea neonatale si è scelto di considerare la quantità di anticorpi totali (IgG) presenti nel colostro di prima produzione, sia di primipare sia di pluripare. È da sottolineare

che sono stati considerati gli anticorpi totali e non la quantità di anticorpi specifici diretti contro i diversi patogeni precedentemente menzionati.

Materiali e Metodi

Durante gli anni 2009 e 2010 sono state arruolate n. 40 aziende con problemi di enterite neonatale del vitello presenti nel territorio del nord Italia (Piemonte, Lombardia, Veneto ed Emilia Romagna). Le aziende prese in esame dovevano soddisfare i seguenti requisiti:

- aziende vocate alla produzione di latte,
- azienda con elevata prevalenza (almeno il 50%) di diarrea neonatale,
- almeno il 70% degli animali di razza frisona,
- nessun protocollo vaccinale nei confronti di Rotavirus, Coronavirus ed *E. coli* F5 (K99) pregresso o in corso.

Raccolta dati prima dell'adozione del protocollo (prima visita in azienda)

Durante la prima visita presso le aziende si sono raccolti i dati anamnestici relativi a:

- locale adibito al parto:
 - o sala parto con lettiera permanente, cuccetta, corsia, infermeria,
 - o pulizia del locale parto (n. di volte alla settimana),
 - o pulizia delle madri, con particolare riferimento alla mammella,
 - o affollamento del locale adibito al parto,
 - o permanenza del vitello nella sala parto.
- Ricoveri dei vitelli:
 - o Gabbietta, igloo, box multipli.

- Pulizia al cambio del vitello (si, no)
- Somministrazione del colostro:
 - Momento della raccolta del colostro (alla mungitura, subito dopo il parto)
 - Tempo e modalità di somministrazione del colostro
 - Intervallo nascita – prima colostratura
 - Numero di pasti
 - Quantità fornita

In seguito è stato chiesto all'allevatore di fornire dati storici relativi alla morbosità e mortalità della patologia.

- numero di vitelli diarroici nei 3 mesi precedenti alla prima visita,
- numero di vitelli morti per cause di diarrea neonatale nei 3 mesi precedenti.

Dopo la prima visita è stato chiesto all'allevatore di effettuare una valutazione clinica della diarrea dei vitelli, continuando per 3 mesi dopo l'inizio dei parti delle madri vaccinate.

Sono stati richiesti i dati del numero di vitelli in diarrea lieve, moderata e grave, dove:

- Diarrea lieve: vitello in diarrea che si alimenta,
- Diarrea moderata: vitello in diarrea che non si alimenta,
- Diarrea grave: vitello che non si alimenta con stato del sensorio abbattuto.

Diagnosi dei patogeni responsabili di diarrea

In seguito alla raccolta dei dati anamnestici si è proceduto con la diagnosi eziologica degli agenti responsabili della diarrea. Sono stati individuati n. 5 vitelli per azienda con sintomatologia clinica, su ogni vitello è stato eseguito un prelievo di materiale fecale direttamente dall'ampolla rettale. Il campione è stato tempestivamente analizzato su campo mediante l'utilizzo del KIT

immunoenzimatico BIO K156 (BioX Diagnostic s.p.r.l. Jemelle, Belgium) seguendo le specifiche riportate dalla ditta produttrice.

Valutazione del trasferimento anticorpale

Per la valutazione dell'adeguato trasferimento anticorpale dalla madre al vitello, mediante la somministrazione di colostro, sono stati individuati n. 5 vitelli per azienda dell'età compresa tra i 2 ed i 5 giorni di vita. Ad ogni vitello è stato prelevato un campione di almeno 2ml di sangue in provette sotto vuoto prive di anticoagulante (Vacuette ®). Dopo massimo 48h, eventualmente trascorse a temperatura di refrigerazione, sono state centrifugate a 2500rpm per 5 minuti. Il siero raccolto da ogni campione è stato testato per la presenza di anticorpi IgG mediante il test di torbidità al sodio solfito, come precedentemente descritto da Tyler et al., 1996 e da Stone and Gitler, 1969. In base ai risultati ottenuti dal test i vitelli sono stati suddivisi in 4 gruppi:

- GRUPPO A: vitelli colostrati in modo corretto: valori IgG ≥ 1200 mg/100ml
- GRUPPO B: vitelli colostrati in modo sufficiente: valori di IgG $= 1000$ mg/100ml
- GRUPPO C: vitelli colostrati in modo scarso: valori di IgG $\leq 1000 \geq 600$ mg/100ml
- GRUPPO D: vitelli colostrati in modo insufficiente: valori IgG ≤ 600 mg/100ml

Tali misurazioni sono state ripetute sui vitelli nati da madri vaccinate e quindi successivamente all'introduzione del protocollo.

Valutazione densità colostro

Al fine di stimare la qualità del colostro delle madri, per ogni azienda sono stati raccolti campioni di colostro di prima mungitura di 5 primipare e 5 pluripare. Il campione raccolto (circa 20ml) è stato prontamente congelato a -18°C fino al momento della determinazione, avvenuta mediante l'utilizzo di un densimetro graduato alla temperatura di 25°C .

Protocollo Operativo

Una volta raccolti tutti i dati descritti, ogni azienda ha iniziato ad utilizzare il protocollo operativo atto al miglioramento della gestione igienico-sanitaria e vaccinale della vitellaiia. Come già accennato, il protocollo prende in considerazione i principali punti critici della gestione dei vitelli nei primi 30 giorni di vita. Le aziende coinvolte hanno apportato alcuni cambiamenti nella loro gestione routinaria degli animali e delle strutture:

- locale adibito al parto, procedura:
 - o creare un ambiente asciutto, comodo, pulito e ben areato per accogliere le vacche in procinto di partorire.
 - o Ove possibile è stato consigliato l'utilizzo di paglia pulita e almeno 10-14m² di lettiera o una cuccetta / capo.
 - o Acqua e fieno a disposizione.
 - o Pulizia e disinfezione della mammella della madre.
 - o Pulizia del locale parto al massimo dopo 2 utilizzi.

- Gestione del vitello, procedure:
 - o togliere il vitello dalla madre entro le 3 ore dopo la nascita, asciugarlo e riporlo in un ricovero precedentemente pulito con idropulitrice, disinfettato e vuoto da almeno 7 giorni. Nel periodo invernale è stato consigliato l'utilizzo di lampade a raggi infrarossi.
 - o Somministrare entro le prime 4 ore di vita almeno 2 litri del primo colostro e garantirne una seconda di almeno 2 litri entro le 12 ore di vita (a temperatura adeguata, circa 38°C).
 - o Continuare con la somministrazione del colostro per 2 giorni effettuando 2 pasti al di (mattina e sera).

- Lasciare acqua fresca e pulita a disposizione fin dal 2° giorno di vita, avendo cura di cambiare l'acqua ogni giorno.
- Dopo ogni somministrazione lavare con acqua fredda e successivamente con acqua calda (80° circa) e ipoclorito di sodio tutti gli strumenti utilizzati per la colostratura (biberon, ciucci, secchi ecc.), asciugando senza risciacquare (1 parte di ipoclorito di sodio al 14% + 2 parti di acqua).
- Pulire e disinfettare i ricoveri al cambio di ogni vitello e tenere circa il 15% di ricoveri in più del necessario per permettere un tutto pieno / tutto vuoto di almeno 7gg.
- Somministrare a tutti i vitelli di 2 giorni di vita alofuginone lattato in quantità di 4mg/45kg pv/die (pari a 8ml di prodotto/45kgpv), continuando con la somministrazione per 7 giorni consecutivi (Halocur ®, Farmaceutici Gellini, gruppo Intervet Schering-Plough Animal Health, Segrate, Milano).
- Gestione delle madri, procedura:
 - Immunizzazione con vaccino inattivato per la profilassi delle infezioni da Rotavirus, Coronavirus ed *E. coli* mediante somministrazione di 2 ml intramuscolare nel periodo compreso tra le 12 e le 3 settimane prima del parto. (Rotavec® Corona, Intervet Schering-Plough Animal Health, Segrate, Milano).
- Terapie dei vitelli in diarrea: essendo il protocollo indirizzato verso la prevenzione delle diarree neonatali, è stato scelto di non prendere in considerazione l'aspetto terapeutico, lasciando piena decisione d'intervento al Medico Veterinario libero professionista.

Risultati

Strutture

Delle 40 aziende prese in considerazione per lo studio, 25 (62,5%) sono dotate di una sala parto su lettiera permanente in paglia, 8 (20%) gestiscono gli animali in parto direttamente nella cuccetta, 4 (10%) per il parto utilizzano l'infermeria, mentre 3 aziende (7,5%) notano che la maggior parte dei parti avviene in corsia. Mediamente vengono effettuati 1,76 (interventi di pulizia alla settimana, in questo dato sono stati considerati gli interventi di pulizia della lettiera/infermeria (sia come aggiunta di paglia, sia come pulizia completa) e di pulizia delle cuccette, non sono stati considerati i passaggi quotidiani delle ruspette in corsia. Per quanto riguarda la pulizia delle madri, nessun allevatore provvedeva alla pulizia e disinfezione della mammella della partoriente, l'aspetto generale dell'animale rispecchiava invece il grado di pulizia degli ambienti in cui erano stabulati gli animali ed il numero di interventi di pulizia degli stessi. Non è stato raccolto il dato relativo al grado di imbrattamento delle madri.

Locali adibiti alla stabulazione dei vitelli

La maggior parte delle aziende (62,5%) stabula i vitelli in gabbietta, mentre l'utilizzo dei box multipli e degli igloo è più raro, rispettivamente il 22,5% ed il 15%. La maggioranza degli allevatori inoltre dichiara di pulire e disinfettare le gabbiette o l'igloo solamente nel momento in cui viene introdotto un nuovo vitello, inoltre di routine non viene praticato il vuoto sanitario della gabbietta di almeno 7 giorni (per problemi legati allo spazio a disposizione).

Le condizioni igieniche delle gabbiette, igloo o dei box multipli, nella maggior parte dei casi non sono soddisfacenti, i vitelli infatti sono sporchi, hanno a disposizione secchi altamente

contaminati da materiale fecale, spesso senza acqua e mangiatoie contenenti agglomerati di alimento inumidito.

Modalità di colostratura

I dati raccolti relativi alle modalità di colostratura indicano che il 55% degli allevatori raccoglie il colostro alla mungitura, quindi indipendentemente dal momento della nascita del vitello, al contrario il restante 45% munge l'animale subito dopo il parto (o comunque prima che entri in sala). Per quanto riguarda le tempistiche di colostratura si può affermare che in media il vitello attende 8,3 ore prima di ricevere il colostro che, in tutte le aziende prese in esame, viene somministrato in 2 pasti e in una quantità media pari a 2,4 litri per pasto.

Agenti eziologici riscontrati

I risultati degli esami microbiologici effettuati sui vitelli diarroici di <30 giorni di vita hanno permesso di evidenziare che nella maggioranza dei casi le diarree sono sostenute da agenti virali come Coronavirus (nel 58% degli isolamenti) e Rotavirus (nel 47,5% degli isolamenti), nel 28,5% dei casi sono stati inoltre isolati come agenti eziologici concomitanti. Un'altra causa di enterite neonatale è rappresentata da *Cryptosporidium parvum*, isolato nel 25% dei vitelli, mentre appare più rara l'enterite da *E. coli* F5 (K99), presente nel 10,5% dei casi. Anche questi ultimi 2 agenti eziologici possono essere riscontrati in concomitanza ad altri fattori causali, in questo caso infatti *Cryptosporidium parvum* è presente contemporaneamente a Rotavirus, Coronavirus o *E. coli* F5 rispettivamente nel 9%, 14,5% e 2,5% dei casi, mentre solo nel 6,5 è agente primario di malattia. *E. coli* F5 invece è presente come unico agente causale solo nel 1,5% degli isolamenti, mentre nel 3,5% è in concomitanza a Rotavirus, nel 5% in associazione a Coronavirus e nel 2,5% è presente con *Cryptosporidium parvum*

agenti eziologici				
	Rotavirus	Coronavirus	<i>E. coli</i> F5	Cryptosporidium
n. vitelli	95	116	21	50
Percentuale (%)	47,5%	58,0%	10,5%	25,0%

Tabella 1: nella tabella sono riassunti il numero di isolamenti dei diversi agenti eziologici e le relative percentuali nei vitelli diarroici.

Risultati test diagnostici

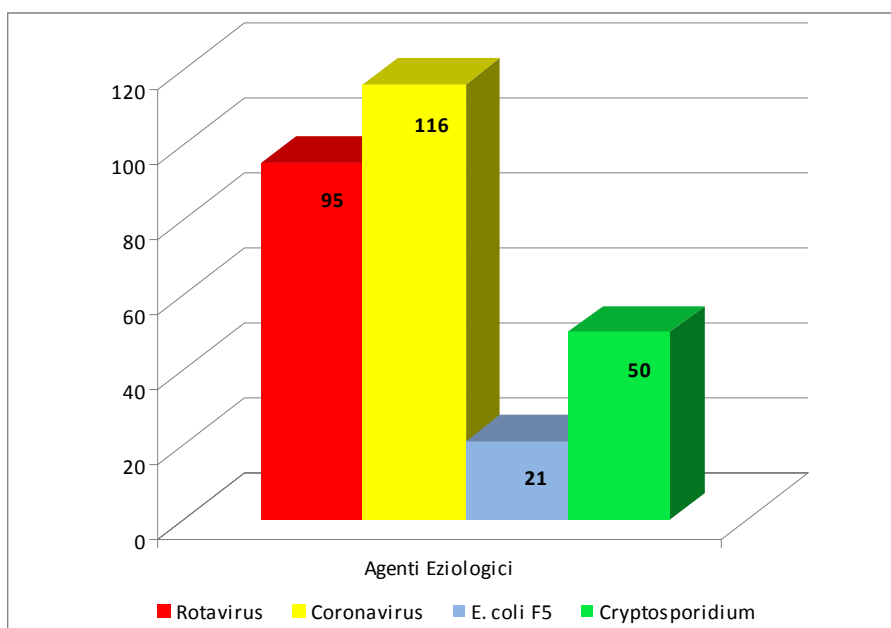


Grafico 1: agenti eziologici riscontrati mediante l'utilizzo dei kit diagnostici BioX in campo. Nel grafico è evidente come i Rotavirus e Coronavirus siano tra i principali agenti eziologici della diarrea neonatale del vitello.

Valutazione del trasferimento colostrale

Dai risultati dello screening effettuato prima dell'inserimento del protocollo si evince che la maggior parte dei vitelli aveva valori di IgG sieriche scarse (<1000 mg/dl). Solamente 43 vitelli su 200 (21,5%) infatti sono stati inseriti nel gruppo A, mentre 67 (33,5%) nel gruppo B e 45 (22,5) sia nel gruppo C sia nel gruppo D. Tre mesi dopo l'inserimento del protocollo sono stati ripetuti i campionamenti su vitelli di 3-5 giorni di vita, per verificare eventuali miglioramenti apportati dalla vaccinazione e/o dalle tecniche di colostratura. Dopo l'inserimento del protocollo i vitelli inseriti

nel gruppo A sono aumentati a 126 su 200 (63%), mentre il numero di vitelli presenti negli altri gruppi è diminuito considerevolmente; infatti 53 vitelli (26,5%) sono stati inseriti nel gruppo B, 17 (8,5%) sono nel gruppo C e solamente 4 vitelli (2%) nel gruppo D.

I dati sono analizzati statisticamente mediante l'utilizzo del test di Wilcoxon Mann-Whitney e la differenza è risultata statisticamente significativa.

	Valori IgG sieriche							
	Gruppo A		Gruppo B		Gruppo C		Gruppo D	
	IgG \geq 1200 mg/dl		IgG =1000 mg/dl		IgG \leq 1000 \geq 600mg/dl		IgG \leq 600 mg/dl	
n. vitelli pre-protocollo	43	(21,5%)	67	(33,5%)	45	(22,5%)	45	(22,5%)
n. vitelli post-protocollo	126	(63,0%)	53	(26,5%)	17	(8,5%)	4	(2,0%)

Tabella 2: nella tabella sono riassunti i dati relativi alla colostratura dei vitelli prima e dopo l'inserimento del protocollo. È da notare l'aumento del numero di vitelli presenti nel gruppo A dopo l'inserimento del protocollo e la relativa diminuzione della numerosità degli altri gruppi.

Valutazione della colostratura

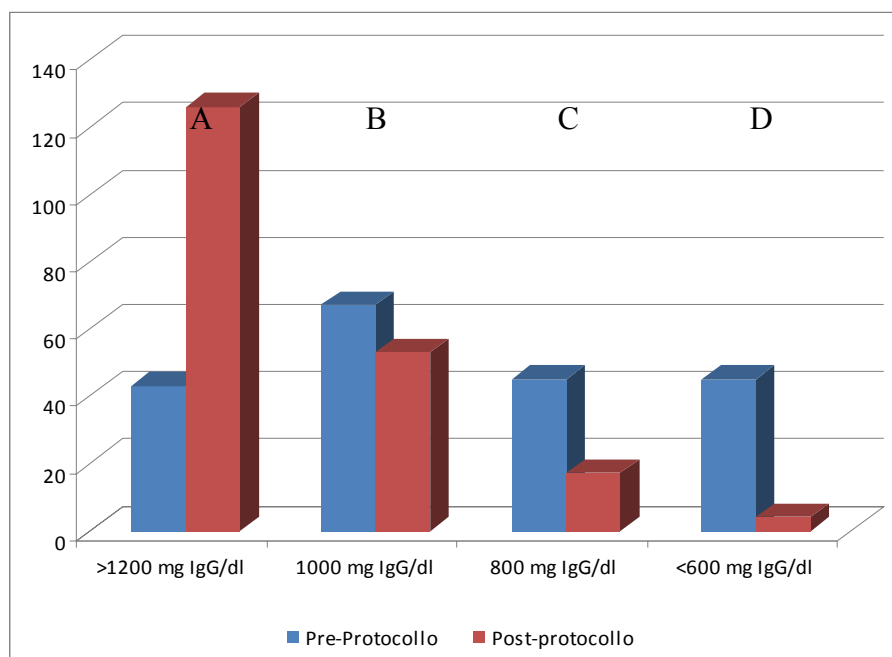


Grafico 2: rappresentazione grafica dei dati relativi alla colostratura. È evidente l'aumento del numero di animali presenti nel gruppo A dopo l'inserimento del protocollo. Al contrario gli animali presenti nei gruppi B, C e D (indicativi di scarsa colostratura) sono più numerosi nel periodo precedente l'introduzione del protocollo.

Valutazione della densità del colostro

Per la valutazione della densità del colostro sono state esaminate 400 bovine equamente suddivise in primipare e pluripare. In base alla densità del colostro è stato possibile effettuare una stima delle IgG presenti. I risultati di tale stima indicano che le pluripare hanno una concentrazione media di IgG pari a 70,6 g/l, al contrario le primipare risultano essere più carenti, infatti la concentrazione media di IgG è di 59,5 g/l. Più precisamente 134 pluripare (il 67%) hanno valori di IgG colostrali >60 g/l, 50 bovine pluripare (il 25%) hanno valori compresi tra 59 g/l e 40 g/l di IgG e solamente 16 pluripare (8%) ha valori di IgG nel colostro <39 g/l. Per quanto riguarda le primipare invece 99 animali (49,5%) hanno valori di IgG colostrali >60 g/l, 69 soggetti (34,5%) hanno valori di IgG compresi tra 59 g/l e 40 g/l e 32 animali (16%) hanno valori di IgG <39 g/l.

	pluripare	primipare
n. animali con >60 g/l di IgG	134 (67%)	99 (19,5%)
n. animali con <59 g/l >40 g/l di IgG	50 (25%)	69 (34,5%)
n. animali con <39 g/l di IgG	16 (8%)	32 (16%)

Tabella 2: nella tabella sono riassunti i dati relativi alla concentrazione di IgG nel colostro di animali pluripari e primipari. Si può notare come il colostro di animali pluripari contenga concentrazioni maggiori di IgG.

Valutazione della sintomatologia clinica

Durante lo studio sono stati monitorati 1829 vitelli prima dell'inserimento del protocollo e 1828 vitelli dopo l'utilizzo dello stesso. Nella valutazione precedente all'inserimento del protocollo, dei 1829 vitelli 813 (44%) hanno sviluppato diarrea in forma lieve, 299 (16%) in forma moderata e 111 (6%) in forma grave. Nei 3 mesi successivi all'introduzione del protocollo dei 1828 vitelli 330 (18%) hanno sviluppato diarrea lieve, 61 (3%) in forma moderata e 31 (2%) in forma grave. Nei mesi precedenti l'attuazione del protocollo, 1223 vitelli su 1829 (67%) hanno sviluppato diarrea, in seguito invece il numero dei casi si è ridotto a 422 vitelli su 1828 (23%). Ciò significa che i vitelli

che non si sono ammalati sono passati da 606 (33%) prima, a 1406 (77%) dopo l'applicazione del protocollo. Questi dati indicano che la morbosità (o morbilità) precedente al protocollo è pari a 40,07% mentre quella successiva è del 18,76%.

Per quanto riguarda la mortalità, il numero di vitelli morti per cause legate alla diarrea, prima dell'inserimento del protocollo è di 92 su 1829, mentre in seguito all'applicazione del protocollo il numero di vitelli venuti a morte era di 48 su 1828. Tali dati indicano che prima dell'inserimento del protocollo la mortalità era pari a 4,79% mentre in seguito diminuisce al 2,56%.

Valutazione clinica della diarrea

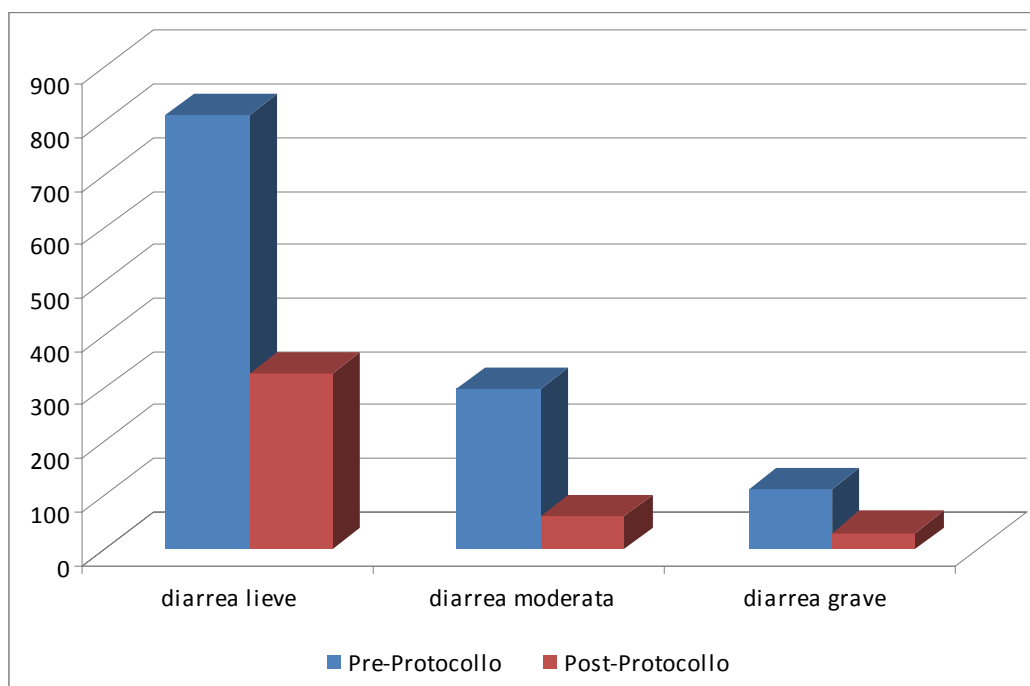


Grafico 3: rappresentazione grafica dei dati relativi alla sintomatologia clinica osservata dall'allevatore prima e dopo l'inserimento del protocollo. Appare evidente una diminuzione delle forme di diarrea lieve, unitamente ad una drastica riduzione delle forme di diarrea moderata e grave.

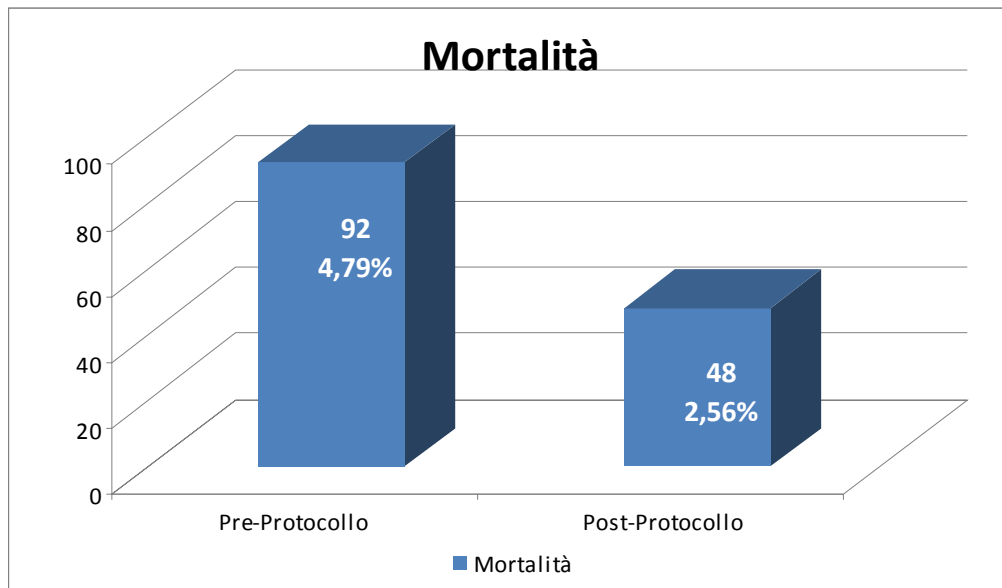


Grafico 43: rappresentazione grafica dei dati relativi alla mortalità prima e dopo l'inserimento del protocollo. Si può notare una riduzione della mortalità.

Foglio dati generali

Agenti Eziologici riscontrati

Rotavirus

91	45,50%
----	--------

esami fecali totali

200

Coronavirus

116	58,00%
-----	--------

E. coli (F5)

21	10,50%
----	--------

Cryptosporidium

50	25,00%
----	--------

Valutazione trasferimento colostrale

Media valori di IgG pre-protocollo

881

 IgG/100ml

Media valori di IgG post-protocollo

1074

 IgG/100ml

Valutazione colostro

media valori di IgG primipare pre-protocollo

57,775

 IgG g/dl

media valori di IgG pluripare pre-protocollo

69,075

 IgG g/dl

Sala Parto

lettiera

1	2,50%
---	-------

corsia

0	0,00%
---	-------

cucette

0	0,00%
---	-------

infermeria

1	2,50%
---	-------

media numero interventi di pulizia per settimana

0,0375

Ricoveri vitelli

gabbiette

1	2,50%
---	-------

igloo

0	0,00%
---	-------

box multipli (sotto i 30gg)

1	2,50%
---	-------

Colostratura

n. aziende che raccolgono il colostro alla mungitura

1	2,50%
---	-------

n. aziende che raccolgono il colostro dopo il parto

1	2,50%
---	-------

intervallo nascita prima colostratura

0,5 ore

numero di pasti al giorno

0,1

 quantità fornita per pasto

0,2 litri

Valutazione diarrea in vitelli di età < a 30gg

n. vitelli in diarrea lieve pre-protocollo	27	34%
n. vitelli in diarrea lieve post-potocollo	23	29%
n. vitelli in diarrea moderata pre-protocollo	17	22%
n. vitelli in diarrea moderata post-protocollo	3	4%
n. vitelli in diarrea grave pre-protocollo	5	6%
n. vitelli in diarrea grave post-protocollo	1	1%
vitelli in diarrea pre-protocollo	49	62%
vitelli in diarrea post-protocollo	27	34%
numero totale vitelli senza diarrea pre-protocollo	30	38%
numero totale vitelli senza diarrea post-protocollo	53	66%
numero vitelli morti pre-protocollo	7	
numero vitelli morti post-protocollo	3	
totale vitelli monitorati pre-protocollo	79	
totale vitelli monitorati post-protocollo	80	
Morbosità pre-protocollo	38,28%	
Morbosità post-protocollo	25,23%	
Mortalità pre-protocollo	8,14%	
Mortalità post-protocollo	3,61%	

Azienda n. 1

Agenti eziologici riscontrati

	Rotavirus	Coronavirus	<i>E. coli</i> (F5)	Cryptosporidium	
1	1	0	0	0	1
2	1	0	0	0	1
3	0	1	0	0	1
4	0	0	0	0	0
5	0	1	0	0	1
	2	2	0	0	4

4

Valutazione trasferimento anticorpale (vitelli 3-5gg di vita)

pre-protocollo				post-protocollo		
1	600	mg/dl		1	1200	mg/dl
2	1000	mg/dl		2	1200	mg/dl
3	1000	mg/dl		3	1000	mg/dl
4	600	mg/dl		4	1200	mg/dl
5	800	mg/dl	DELTA	5	1200	mg/dl
media	800	mg/dl	360	media	1160	mg/dl
			mg/dl			

Valutazione colostro

primipare				pluripare		
1	40	mg/ml		1	95	mg/ml
2	95	mg/ml		2	50	mg/ml
3	95	mg/ml		3	75	mg/ml
4	40	mg/ml		4	75	mg/ml
5	30	mg/ml		5	50	mg/ml
media	60				69	

Valutazione diarrea in vitelli di età < a 30gg

	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	11	13	3	8	35	1
pre-protocollo	31%	37%	9%	23%	100%	3%
	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	8	0	0	11	19	1
post-protocollo	42%	0%	0%	58%	100%	5%

*: animali deceduti entro il mese di vita per cause legate alla diarrea (inclusi nel numero dei sintomatici).

	numero	%
totale vitelli in diarrea pre-protocollo	27	77%
totale vitelli in diarrea post-protocollo	8	42%
totale vitelli morti pre-protocollo	1	3%
totale vitelli morti post-protocollo	1	5%

Sala parto

lettiera cuccetta infermeria corsia
 numero di interventi di pulizia per settimana

Ricoveri vitelli

gabbietta igloo box multipli (sotto i 30gg)

Colostratura

raccolta del colostro alla mungitura dopo il parto
 intervallo nascita prima colostratura
 numero di pasti al giorno
 quantità fornita per pasto

Azienda n. 2

Agenti eziologici riscontrati

	Rotavirus	Coronavirus	<i>E. coli</i> (F5)	Cryptosporidium	
1	0	0	0	0	0
2	1	1	0	0	2
3	0	1	0	0	1
4	0	1	1	0	2
5	1	0	0	0	1
	2	3	1	0	6

6

Valutazione trasferimento anticorpale (vitelli 3-5gg di vita)

pre-protocollo				post-protocollo		
1	600	mg/dl		1	1200	mg/dl
2	600	mg/dl		2	1000	mg/dl
3	1000	mg/dl		3	1200	mg/dl
4	600	mg/dl		4	1000	mg/dl
5	1000	mg/dl	DELTA	5	1200	mg/dl
media	760	mg/dl	360	media	1120	mg/dl
			mg/dl			

Valutazione colostro

primipare			pluripare		
1	35	mg/ml	1	60	mg/ml
2	60	mg/ml	2	95	mg/ml
3	35	mg/ml	3	75	mg/ml
4	40	mg/ml	4	95	mg/ml
5	110	mg/ml	5	125	mg/ml
media	56			90	

Valutazione diarrea in vitelli di età < a 30gg

	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	5	7	4	3	19	5
pre-protocollo	26%	37%	21%	16%	100%	26%
	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	4	2	0	10	16	2
post-protocollo	25%	13%	0%	63%	100%	13%

*: animali deceduti entro il mese di vita per cause legate alla diarrea (inclusi nel numero dei sintomatici).

	numero	%
totale vitelli in diarrea pre-protocollo	16	84%
totale vitelli in diarrea post-protocollo	6	38%
totale vitelli morti pre-protocollo	5	26%
totale vitelli morti post-protocollo	2	13%

Sala parto

lettiera cuccetta infermeria corsia
 numero di interventi di pulizia per settimana

Ricoveri vitelli

gabbietta igloo box multipli (sotto i 30gg)

Colostratura

raccolta del colostro alla mungitura dopo il parto
 intervallo nascita prima colostratura
 numero di pasti al giorno
 quantità fornita per pasto

Azienda n. 3

Agenti eziologici riscontrati

	Rotavirus	Coronavirus	<i>E. coli</i> (F5)	Cryptosporidium	
1	0	1	0	0	1
2	1	0	0	0	1
3	0	1	0	1	2
4	0	0	0	1	1
5	0	0	0	1	1
	1	2	0	3	6

6

Valutazione trasferimento anticorpale (vitelli 3-5gg di vita)

pre-protocollo				post-protocollo		
1	800	mg/dl		1	1200	mg/dl
2	800	mg/dl		2	1200	mg/dl
3	1200	mg/dl		3	800	mg/dl
4	1000	mg/dl		4	1000	mg/dl
5	600	mg/dl	DELTA	5	1000	mg/dl
media	880	mg/dl	160	media	1040	mg/dl
			mg/dl			

Valutazione colostro

primipare				pluripare		
1	110	mg/ml		1	60	mg/ml
2	60	mg/ml		2	50	mg/ml
3	35	mg/ml		3	50	mg/ml
4	60	mg/ml		4	60	mg/ml
5	60	mg/ml		5	95	mg/ml
media	65				63	

Valutazione diarrea in vitelli di età < a 30gg

	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	3	2	2	4	11	0
pre-protocollo	27%	18%	18%	36%	100%	0%
	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	4	0	0	12	16	0
post-protocollo	25%	0%	0%	75%	100%	0%

*: animali deceduti entro il mese di vita per cause legate alla diarrea (inclusi nel numero dei sintomatici).

	numero	%
totale vitelli in diarrea pre-protocollo	7	64%
totale vitelli in diarrea post-protocollo	4	25%
totale vitelli morti pre-protocollo	0	0%
totale vitelli morti post-protocollo	0	0%

Sala parto

lettiera cuccetta infermeria corsia
 numero di interventi di pulizia per settimana

Ricoveri vitelli

gabbietta igloo box multipli (sotto i 30gg)

Colostratura

raccolta del colostro alla mungitura dopo il parto
 intervallo nascita prima colostratura
 numero di pasti al giorno
 quantità fornita per pasto

Azienda n. 4

Agenti eziologici riscontrati

	Rotavirus	Coronavirus	<i>E. coli</i> (F5)	Cryptosporidium	
1	0	0	0	1	1
2	0	1	0	1	2
3	1	1	0	1	3
4	1	0	0	0	1
5	0	1	0	0	1
	2	3	0	3	8

8

Valutazione trasferimento anticorpale (vitelli 3-5gg di vita)

pre-protocollo				post-protocollo		
1	600	mg/dl		1	1200	mg/dl
2	1000	mg/dl		2	1200	mg/dl
3	800	mg/dl		3	1200	mg/dl
4	600	mg/dl		4	1200	mg/dl
5	800	mg/dl	DELTA	5	800	mg/dl
media	760	mg/dl	360	media	1120	mg/dl
			mg/dl			

Valutazione colostro

primipare				pluripare		
1	50	mg/ml		1	70	mg/ml
2	40	mg/ml		2	60	mg/ml
3	75	mg/ml		3	50	mg/ml
4	75	mg/ml		4	95	mg/ml
5	75	mg/ml		5	125	mg/ml
media	63				80	

Valutazione diarrea in vitelli di età < a 30gg

	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	70	10	0	50	130	1
pre-protocollo	54%	8%	0%	38%	100%	1%
	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	51	0	7	93	151	2
post-protocollo	34%	0%	5%	62%	100%	1%

*: animali deceduti entro il mese di vita per cause legate alla diarrea (inclusi nel numero dei sintomatici).

	numero	%
totale vitelli in diarrea pre-protocollo	80	62%
totale vitelli in diarrea post-protocollo	58	38%
totale vitelli morti pre-protocollo	1	1%
totale vitelli morti post-protocollo	2	1%

Sala parto

lettiera cuccetta infermeria corsia
 numero di interventi di pulizia per settimana

Ricoveri vitelli

gabbietta igloo box multipli (sotto i 30gg)

Colostratura

raccolta del colostro alla mungitura dopo il parto
 intervallo nascita prima colostratura
 numero di pasti al giorno
 quantità fornita per pasto

Azienda n. 5

Agenti eziologici riscontrati

	Rotavirus	Coronavirus	<i>E. coli</i> (F5)	Cryptosporidium	
1	1	1	0	0	2
2	1	0	0	0	1
3	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0
5	1	1	0	0	2
	3	2	0	0	5

5

Valutazione trasferimento anticorpale (vitelli 3-5gg di vita)

pre-protocollo				post-protocollo		
1	1200	mg/dl		1	1000	mg/dl
2	800	mg/dl		2	1200	mg/dl
3	800	mg/dl		3	1200	mg/dl
4	800	mg/dl		4	1000	mg/dl
5	800	mg/dl	DELTA	5	1200	mg/dl
media	880	mg/dl	240	media	1120	mg/dl
			mg/dl			

Valutazione colostro

primipare				pluripare		
1	75	mg/ml		1	40	mg/ml
2	30	mg/ml		2	95	mg/ml
3	35	mg/ml		3	110	mg/ml
4	95	mg/ml		4	95	mg/ml
5	50	mg/ml		5	40	mg/ml
media	57				76	

Valutazione diarrea in vitelli di età < a 30gg

	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	12	10	2	32	56	0
pre-protocollo	21%	18%	4%	57%	100%	0%
	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	4	2	0	44	50	2
post-protocollo	8%	4%	0%	88%	100%	4%

*: animali deceduti entro il mese di vita per cause legate alla diarrea (inclusi nel numero dei sintomatici).

	numero	%
totale vitelli in diarrea pre-protocollo	24	43%
totale vitelli in diarrea post-protocollo	6	12%
totale vitelli morti pre-protocollo	0	0%
totale vitelli morti post-protocollo	2	4%

Sala parto

lettiera cuccetta infermeria corsia
 numero di interventi di pulizia per settimana

Ricoveri vitelli

gabbietta igloo box multipli (sotto i 30gg)

Colostratura

raccolta del colostro alla mungitura dopo il parto
 intervallo nascita prima colostratura
 numero di pasti al giorno
 quantità fornita per pasto

Azienda n. 6

Agenti eziologici riscontrati

	Rotavirus	Coronavirus	<i>E. coli</i> (F5)	Cryptosporidium	
1	1	1	0	1	3
2	0	1	0	1	2
3	1	0	0	0	1
4	0	0	0	1	1
5	1	1	0	0	2
	3	3	0	3	9

9

Valutazione trasferimento anticorpale (vitelli 3-5gg di vita)

pre-protocollo				post-protocollo		
1	1200	mg/dl		1	1000	mg/dl
2	800	mg/dl		2	1200	mg/dl
3	800	mg/dl		3	1200	mg/dl
4	800	mg/dl		4	1000	mg/dl
5	800	mg/dl	DELTA	5	1200	mg/dl
media	880	mg/dl	240	media	1120	mg/dl
			mg/dl			

Valutazione colostro

primipare				pluripare		
1	60	mg/ml		1	50	mg/ml
2	75	mg/ml		2	110	mg/ml
3	40	mg/ml		3	40	mg/ml
4	75	mg/ml		4	75	mg/ml
5	30	mg/ml		5	110	mg/ml
media	56				77	

Valutazione diarrea in vitelli di età < a 30gg

	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	51	13	2	62	128	3
pre-protocollo	40%	10%	2%	48%	100%	2%
	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	24	4	1	88	117	1
post-protocollo	21%	3%	1%	75%	100%	1%

*: animali deceduti entro il mese di vita per cause legate alla diarrea (inclusi nel numero dei sintomatici).

	numero	%
totale vitelli in diarrea pre-protocollo	66	52%
totale vitelli in diarrea post-protocollo	29	25%
totale vitelli morti pre-protocollo	3	2%
totale vitelli morti post-protocollo	1	1%

Sala parto

lettiera cuccetta infermeria corsia
 numero di interventi di pulizia per settimana

Ricoveri vitelli

gabbietta igloo box multipli (sotto i 30gg)

Colostratura

raccolta del colostro alla mungitura dopo il parto
 intervallo nascita prima colostratura
 numero di pasti al giorno
 quantità fornita per pasto

Azienda n. 7

Agenti eziologici riscontrati

	Rotavirus	Coronavirus	<i>E. coli</i> (F5)	Cryptosporidium	
1	0	1	0	0	1
2	0	1	0	1	2
3	0	0	0	1	1
4	0	0	1	1	2
5	0	0	0	0	0
	0	2	1	3	6
					6

Valutazione trasferimento anticorpale (vitelli 3-5gg di vita)

pre-protocollo				post-protocollo		
1	600	mg/dl		1	1200	mg/dl
2	1200	mg/dl		2	1200	mg/dl
3	1200	mg/dl		3	1000	mg/dl
4	800	mg/dl		4	1200	mg/dl
5	800	mg/dl	DELTA	5	1000	mg/dl
media	920	mg/dl	200	media	1120	mg/dl
			mg/dl			

Valutazione colostro

primipare				pluripare		
1	95	mg/ml		1	95	mg/ml
2	95	mg/ml		2	60	mg/ml
3	60	mg/ml		3	75	mg/ml
4	75	mg/ml		4	60	mg/ml
5	50	mg/ml		5	35	mg/ml
media	75				65	

Valutazione diarrea in vitelli di età < a 30gg

	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	24	8	7	4	43	3
pre-protocollo	56%	19%	16%	9%	100%	7%
	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	14	4	2	22	42	0
post-protocollo	33%	10%	5%	52%	100%	0%

*: animali deceduti entro il mese di vita per cause legate alla diarrea (inclusi nel numero dei sintomatici).

	numero	%
totale vitelli in diarrea pre-protocollo	39	91%
totale vitelli in diarrea post-protocollo	20	48%
totale vitelli morti pre-protocollo	3	7%
totale vitelli morti post-protocollo	0	0%

Sala parto

lettiera cuccetta infermeria corsia
 numero di interventi di pulizia per settimana

Ricoveri vitelli

gabbietta igloo box multipli (sotto i 30gg)

Colostratura

raccolta del colostro alla mungitura dopo il parto
 intervallo nascita prima colostratura
 numero di pasti al giorno
 quantità fornita per pasto

Azienda n. 8

Agenti eziologici riscontrati

	Rotavirus	Coronavirus	<i>E. coli</i> (F5)	Cryptosporidium	
1	1	1	0	0	2
2	0	0	0	1	1
3	1	0	0	1	2
4	0	1	0	0	1
5	0	1	0	0	1
	2	3	0	2	7

7

Valutazione trasferimento anticorpale (vitelli 3-5gg di vita)

pre-protocollo				post-protocollo		
1	1000	mg/dl		1	1000	mg/dl
2	600	mg/dl		2	600	mg/dl
3	1000	mg/dl		3	1000	mg/dl
4	600	mg/dl		4	1200	mg/dl
5	1000	mg/dl	DELTA	5	1200	mg/dl
media	840	mg/dl	160	media	1000	mg/dl
			mg/dl			

Valutazione colostro

primipare			pluripare		
1	30	mg/ml	1	40	mg/ml
2	35	mg/ml	2	75	mg/ml
3	110	mg/ml	3	50	mg/ml
4	60	mg/ml	4	60	mg/ml
5	95	mg/ml	5	110	mg/ml
media	66			67	

Valutazione diarrea in vitelli di età < a 30gg

	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	104	11	2	28	145	0
pre-protocollo	72%	8%	1%	19%	100%	0%
	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	16	2	0	91	109	0
post-protocollo	15%	2%	0%	83%	100%	0%

*: animali deceduti entro il mese di vita per cause legate alla diarrea (inclusi nel numero dei sintomatici).

	numero	%
totale vitelli in diarrea pre-protocollo	117	81%
totale vitelli in diarrea post-protocollo	18	17%
totale vitelli morti pre-protocollo	0	0%
totale vitelli morti post-protocollo	0	0%

Sala parto

lettiera cuccetta infermeria corsia
 numero di interventi di pulizia per settimana

Ricoveri vitelli

gabbietta igloo box multipli (sotto i 30gg)

Colostratura

raccolta del colostro alla mungitura dopo il parto
 intervallo nascita prima colostratura
 numero di pasti al giorno
 quantità fornita per pasto

Valutazione diarrea in vitelli di età < a 30gg

	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	4	12	3	6	25	4
pre-protocollo	16%	48%	12%	24%	100%	16%
	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	8	3	1	9	21	1
post-protocollo	38%	14%	5%	43%	100%	5%

*: animali deceduti entro il mese di vita per cause legate alla diarrea (inclusi nel numero dei sintomatici).

	numero	%
totale vitelli in diarrea pre-protocollo	19	76%
totale vitelli in diarrea post-protocollo	12	57%
totale vitelli morti pre-protocollo	4	16%
totale vitelli morti post-protocollo	1	5%

Sala parto

lettiera cuccetta infermeria corsia
 numero di interventi di pulizia per settimana

Ricoveri vitelli

gabbietta igloo box multipli (sotto i 30gg)

Colostratura

raccolta del colostro alla mungitura dopo il parto
 intervallo nascita prima colostratura
 numero di pasti al giorno
 quantità fornita per pasto

Azienda n. 9

Agenti eziologici riscontrati

	Rotavirus	Coronavirus	<i>E. coli</i> (F5)	Cryptosporidium	
1	0	0	0	0	0
2	1	0	0	0	1
3	1	0	0	0	1
4	1	0	0	0	1
5	1	0	0	0	1
	4	0	0	0	4

4

Valutazione trasferimento anticorpale (vitelli 3-5gg di vita)

pre-protocollo				post-protocollo		
1	1000	mg/dl		1	1200	mg/dl
2	1200	mg/dl		2	1200	mg/dl
3	1200	mg/dl		3	1200	mg/dl
4	1000	mg/dl		4	1000	mg/dl
5	1000	mg/dl	DELTA	5	800	mg/dl
media	1080	mg/dl	0	media	1080	mg/dl
			mg/dl			

Valutazione colostro

primipare				pluripare		
1	35	mg/ml		1	95	mg/ml
2	60	mg/ml		2	95	mg/ml
3	95	mg/ml		3	30	mg/ml
4	60	mg/ml		4	30	mg/ml
5	95	mg/ml		5	60	mg/ml
media	69				62	

Azienda n. 10

Agenti eziologici riscontrati

	Rotavirus	Coronavirus	<i>E. coli</i> (F5)	Cryptosporidium	
1	0	1	0	0	1
2	0	1	0	0	1
3	0	1	0	1	2
4	0	1	0	1	2
5	0	1	0	0	1
	0	5	0	2	7

7

Valutazione trasferimento anticorpale (vitelli 3-5gg di vita)

pre-protocollo				post-protocollo		
1	1200	mg/dl		1	800	mg/dl
2	1000	mg/dl		2	1000	mg/dl
3	1000	mg/dl		3	1200	mg/dl
4	600	mg/dl		4	1000	mg/dl
5	800	mg/dl	DELTA	5	1200	mg/dl
media	920	mg/dl	120	media	1040	mg/dl
			mg/dl			

Valutazione colostro

primipare				pluripare		
1	40	mg/ml		1	125	mg/ml
2	75	mg/ml		2	95	mg/ml
3	30	mg/ml		3	60	mg/ml
4	35	mg/ml		4	60	mg/ml
5	50	mg/ml		5	30	mg/ml
media	46				74	

Valutazione diarrea in vitelli di età < a 30gg

	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	21	6	8	4	39	5
pre-protocollo	54%	15%	21%	10%	100%	13%
	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	9	4	1	26	40	1
post-protocollo	23%	10%	3%	65%	100%	3%

*: animali deceduti entro il mese di vita per cause legate alla diarrea (inclusi nel numero dei sintomatici).

	numero	%
totale vitelli in diarrea pre-protocollo	35	90%
totale vitelli in diarrea post-protocollo	14	35%
totale vitelli morti pre-protocollo	5	13%
totale vitelli morti post-protocollo	1	3%

Sala parto

lettiera cuccetta infermeria corsia
 numero di interventi di pulizia per settimana

Ricoveri vitelli

gabbietta igloo box multipli (sotto i 30gg)

Colostratura

raccolta del colostro alla mungitura dopo il parto
 intervallo nascita prima colostratura
 numero di pasti al giorno
 quantità fornita per pasto

Azienda n. 11

Agenti eziologici riscontrati

	Rotavirus	Coronavirus	<i>E. coli</i> (F5)	Cryptosporidium	
1	1	0	0	0	1
2	1	0	1	0	2
3	0	0	0	0	0
4	0	0	1	0	1
5	0	0	1	0	1
	2	0	3	0	5

5

Valutazione trasferimento anticorpale (vitelli 3-5gg di vita)

pre-protocollo				post-protocollo		
1	1000	mg/dl		1	1000	mg/dl
2	1200	mg/dl		2	1200	mg/dl
3	1000	mg/dl		3	1000	mg/dl
4	800	mg/dl		4	1200	mg/dl
5	600	mg/dl	DELTA	5	800	mg/dl
media	920	mg/dl	120	media	1040	mg/dl
			mg/dl			

Valutazione colostro

primipare				pluripare		
1	40	mg/ml		1	40	mg/ml
2	40	mg/ml		2	60	mg/ml
3	40	mg/ml		3	110	mg/ml
4	40	mg/ml		4	60	mg/ml
5	110	mg/ml		5	40	mg/ml
media	54				62	

Valutazione diarrea in vitelli di età < a 30gg

	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	1	0	7	11	19	4
pre-protocollo	5%	0%	37%	58%	100%	21%
	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	1	0	0	22	23	1
post-protocollo	4%	0%	0%	96%	100%	4%

*: animali deceduti entro il mese di vita per cause legate alla diarrea (inclusi nel numero dei sintomatici).

	numero	%
totale vitelli in diarrea pre-protocollo	8	42%
totale vitelli in diarrea post-protocollo	1	4%
totale vitelli morti pre-protocollo	4	21%
totale vitelli morti post-protocollo	1	4%

Sala parto

lettiera cuccetta infermeria corsia
 numero di interventi di pulizia per settimana

Ricoveri vitelli

gabbietta igloo box multipli (sotto i 30gg)

Colostratura

raccolta del colostro alla mungitura dopo il parto
 intervallo nascita prima colostratura
 numero di pasti al giorno
 quantità fornita per pasto

Azienda n. 12

Agenti eziologici riscontrati

	Rotavirus	Coronavirus	<i>E. coli</i> (F5)	Cryptosporidium	
1	1	1	0	1	3
2	1	1	0	0	2
3	1	1	0	0	2
4	0	1	0	1	2
5	0	0	0	1	1
	3	4	0	3	10

10

Valutazione trasferimento anticorpale (vitelli 3-5gg di vita)

pre-protocollo				post-protocollo		
1	1000	mg/dl		1	1000	mg/dl
2	1200	mg/dl		2	800	mg/dl
3	1000	mg/dl		3	1200	mg/dl
4	1000	mg/dl		4	1000	mg/dl
5	600	mg/dl	DELTA	5	1000	mg/dl
media	960	mg/dl	40	media	1000	mg/dl
			mg/dl			

Valutazione colostro

primipare				pluripare		
1	40	mg/ml		1	35	mg/ml
2	40	mg/ml		2	75	mg/ml
3	40	mg/ml		3	60	mg/ml
4	40	mg/ml		4	30	mg/ml
5	10	mg/ml		5	95	mg/ml
media	34				59	

Valutazione diarrea in vitelli di età < a 30gg

	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	23	19	2	6	50	3
pre-protocollo	46%	38%	4%	12%	100%	6%
	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	3	2	1	41	47	2
post-protocollo	6%	4%	2%	87%	100%	4%

*: animali deceduti entro il mese di vita per cause legate alla diarrea (inclusi nel numero dei sintomatici).

	numero	%
totale vitelli in diarrea pre-protocollo	44	88%
totale vitelli in diarrea post-protocollo	6	13%
totale vitelli morti pre-protocollo	3	6%
totale vitelli morti post-protocollo	2	4%

Sala parto

lettiera cuccetta infermeria corsia
 numero di interventi di pulizia per settimana

Ricoveri vitelli

gabbietta igloo box multipli (sotto i 30gg)

Colostratura

raccolta del colostro alla mungitura dopo il parto
 intervallo nascita prima colostratura
 numero di pasti al giorno
 quantità fornita per pasto

Azienda n. 13

Agenti eziologici riscontrati

	Rotavirus	Coronavirus	<i>E. coli</i> (F5)	Cryptosporidium	
1	0	1	0	0	1
2	1	1	0	0	2
3	1	0	0	0	1
4	0	1	0	0	1
5	0	1	0	0	1
	2	4	0	0	6

6

Valutazione trasferimento anticorpale (vitelli 3-5gg di vita)

pre-protocollo				post-protocollo		
1	1000	mg/dl		1	1200	mg/dl
2	800	mg/dl		2	1200	mg/dl
3	600	mg/dl		3	1200	mg/dl
4	600	mg/dl		4	1000	mg/dl
5	1000	mg/dl	DELTA	5	1200	mg/dl
media	800	mg/dl	360	media	1160	mg/dl
			mg/dl			

Valutazione colostro

primipare				pluripare		
1	10	mg/ml		1	40	mg/ml
2	35	mg/ml		2	110	mg/ml
3	95	mg/ml		3	75	mg/ml
4	40	mg/ml		4	40	mg/ml
5	40	mg/ml		5	125	mg/ml
media	44				78	

Valutazione diarrea in vitelli di età < a 30gg

	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	35	7	1	9	52	1
pre-protocollo	67%	13%	2%	17%	100%	2%
	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	4	0	0	51	55	0
post-protocollo	7%	0%	0%	93%	100%	0%

*: animali deceduti entro il mese di vita per cause legate alla diarrea (inclusi nel numero dei sintomatici).

	numero	%
totale vitelli in diarrea pre-protocollo	43	83%
totale vitelli in diarrea post-protocollo	4	7%
totale vitelli morti pre-protocollo	1	2%
totale vitelli morti post-protocollo	0	0%

Sala parto

lettiera cuccetta infermeria corsia
 numero di interventi di pulizia per settimana

Ricoveri vitelli

gabbietta igloo box multipli (sotto i 30gg)

Colostratura

raccolta del colostro alla mungitura dopo il parto
 intervallo nascita prima colostratura
 numero di pasti al giorno
 quantità fornita per pasto

Azienda n. 14

Agenti eziologici riscontrati

	Rotavirus	Coronavirus	<i>E. coli</i> (F5)	Cryptosporidium	
1	0	1	1	0	2
2	0	1	1	0	2
3	1	0	0	0	1
4	0	0	0	0	0
5	1	1	0	0	2
	2	3	2	0	7

7

Valutazione trasferimento anticorpale (vitelli 3-5gg di vita)

pre-protocollo				post-protocollo		
1	800	mg/dl		1	1200	mg/dl
2	1200	mg/dl		2	800	mg/dl
3	1200	mg/dl		3	1200	mg/dl
4	1000	mg/dl		4	1000	mg/dl
5	1000	mg/dl	DELTA	5	600	mg/dl
media	1040	mg/dl	-80	media	960	mg/dl
			mg/dl			

Valutazione colostro

primipare				pluripare		
1	60	mg/ml		1	35	mg/ml
2	60	mg/ml		2	125	mg/ml
3	95	mg/ml		3	95	mg/ml
4	60	mg/ml		4	75	mg/ml
5	60	mg/ml		5	125	mg/ml
media	67				91	

Valutazione diarrea in vitelli di età < a 30gg

	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	4	2	0	19	25	2
pre-protocollo	16%	8%	0%	76%	100%	8%
	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	4	1	0	17	22	1
post-protocollo	18%	5%	0%	77%	100%	5%

*: animali deceduti entro il mese di vita per cause legate alla diarrea (inclusi nel numero dei sintomatici).

	numero	%
totale vitelli in diarrea pre-protocollo	6	24%
totale vitelli in diarrea post-protocollo	5	23%
totale vitelli morti pre-protocollo	2	8%
totale vitelli morti post-protocollo	1	5%

Sala parto

lettiera cuccetta infermeria corsia
 numero di interventi di pulizia per settimana

Ricoveri vitelli

gabbietta igloo box multipli (sotto i 30gg)

Colostratura

raccolta del colostro alla mungitura dopo il parto
 intervallo nascita prima colostratura
 numero di pasti al giorno
 quantità fornita per pasto

Azienda n. 15

Agenti eziologici riscontrati

	Rotavirus	Coronavirus	<i>E. coli</i> (F5)	Cryptosporidium	
1	1	1	0	0	2
2	1	1	0	1	3
3	1	1	0	1	3
4	1	1	0	0	2
5	0	1	0	1	2
	4	5	0	3	12

12

Valutazione trasferimento anticorpale (vitelli 3-5gg di vita)

pre-protocollo				post-protocollo		
1	800	mg/dl		1	1200	mg/dl
2	1000	mg/dl		2	1000	mg/dl
3	1200	mg/dl		3	1200	mg/dl
4	1000	mg/dl		4	1200	mg/dl
5	800	mg/dl	DELTA	5	1200	mg/dl
media	960	mg/dl	200	media	1160	mg/dl
			mg/dl			

Valutazione colostro

primipare			pluripare		
1	60	mg/ml	1	35	mg/ml
2	40	mg/ml	2	60	mg/ml
3	40	mg/ml	3	110	mg/ml
4	35	mg/ml	4	55	mg/ml
5	50	mg/ml	5	50	mg/ml
media	45			62	

Valutazione diarrea in vitelli di età < a 30gg

	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	36	7	0	6	49	2
pre-protocollo	73%	14%	0%	12%	100%	4%
	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	9	1	0	32	42	1
post-protocollo	21%	2%	0%	76%	100%	2%

*: animali deceduti entro il mese di vita per cause legate alla diarrea (inclusi nel numero dei sintomatici).

	numero	%
totale vitelli in diarrea pre-protocollo	43	88%
totale vitelli in diarrea post-protocollo	10	24%
totale vitelli morti pre-protocollo	2	4%
totale vitelli morti post-protocollo	1	2%

Sala parto

lettiera cuccetta infermeria corsia
 numero di interventi di pulizia per settimana

Ricoveri vitelli

gabbietta igloo box multipli (sotto i 30gg)

Colostratura

raccolta del colostro alla mungitura dopo il parto
 intervallo nascita prima colostratura
 numero di pasti al giorno
 quantità fornita per pasto

Azienda n. 16

Agenti eziologici riscontrati

	Rotavirus	Coronavirus	<i>E. coli</i> (F5)	Cryptosporidium	
1	1	1	0	0	2
2	0	1	0	0	1
3	0	1	0	0	1
4	0	0	0	0	0
5	1	1	0	0	2
	2	4	0	0	6

6

Valutazione trasferimento anticorpale (vitelli 3-5gg di vita)

pre-protocollo				post-protocollo		
1	1000	mg/dl		1	1200	mg/dl
2	1000	mg/dl		2	800	mg/dl
3	1200	mg/dl		3	1200	mg/dl
4	1200	mg/dl		4	800	mg/dl
5	1000	mg/dl	DELTA	5	1000	mg/dl
media	1080	mg/dl	-80	media	1000	mg/dl
			mg/dl			

Valutazione colostro

primipare			pluripare		
1	60	mg/ml	1	60	mg/ml
2	35	mg/ml	2	110	mg/ml
3	95	mg/ml	3	30	mg/ml
4	40	mg/ml	4	95	mg/ml
5	40	mg/ml	5	40	mg/ml
media	54			67	

Valutazione diarrea in vitelli di età < a 30gg

	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	39	12	4	8	63	1
pre-protocollo	62%	19%	6%	13%	100%	2%
	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	12	8	4	32	56	1
post-protocollo	21%	14%	7%	57%	100%	2%

*: animali deceduti entro il mese di vita per cause legate alla diarrea (inclusi nel numero dei sintomatici).

	numero	%
totale vitelli in diarrea pre-protocollo	55	87%
totale vitelli in diarrea post-protocollo	24	43%
totale vitelli morti pre-protocollo	1	2%
totale vitelli morti post-protocollo	1	2%

Sala parto

lettiera cuccetta infermeria corsia
 numero di interventi di pulizia per settimana

Ricoveri vitelli

gabbietta igloo box multipli (sotto i 30gg)

Colostratura

raccolta del colostro alla mungitura dopo il parto
 intervallo nascita prima colostratura
 numero di pasti al giorno
 quantità fornita per pasto

Azienda n. 17

Agenti eziologici riscontrati

	Rotavirus	Coronavirus	<i>E. coli</i> (F5)	Cryptosporidium	
1	0	1	0	0	1
2	1	1	0	1	3
3	1	0	0	0	1
4	0	0	0	0	0
5	1	1	0	0	2
	3	3	0	1	7

7

Valutazione trasferimento anticorpale (vitelli 3-5gg di vita)

pre-protocollo				post-protocollo		
1	1200	mg/dl		1	1200	mg/dl
2	1000	mg/dl		2	1200	mg/dl
3	1200	mg/dl		3	1200	mg/dl
4	600	mg/dl		4	1200	mg/dl
5	600	mg/dl	DELTA	5	1200	mg/dl
media	920	mg/dl	280	media	1200	mg/dl
			mg/dl			

Valutazione colostro

primipare				pluripare		
1	40	mg/ml		1	110	mg/ml
2	95	mg/ml		2	60	mg/ml
3	35	mg/ml		3	60	mg/ml
4	60	mg/ml		4	40	mg/ml
5	60	mg/ml		5	50	mg/ml
media	58				64	

Valutazione diarrea in vitelli di età < a 30gg

	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	36	31	10	42	119	1
pre-protocollo	30%	26%	8%	35%	100%	1%
	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	10	2	0	111	123	0
post-protocollo	8%	2%	0%	90%	100%	0%

*: animali deceduti entro il mese di vita per cause legate alla diarrea (inclusi nel numero dei sintomatici).

	numero	%
totale vitelli in diarrea pre-protocollo	77	65%
totale vitelli in diarrea post-protocollo	12	10%
totale vitelli morti pre-protocollo	1	1%
totale vitelli morti post-protocollo	0	0%

Sala parto

lettiera cuccetta infermeria corsia
 numero di interventi di pulizia per settimana

Ricoveri vitelli

gabbietta igloo box multipli (sotto i 30gg)

Colostratura

raccolta del colostro alla mungitura dopo il parto
 intervallo nascita prima colostratura
 numero di pasti al giorno
 quantità fornita per pasto

Azienda n. 18

Agenti eziologici riscontrati

	Rotavirus	Coronavirus	E. coli (F5)	Cryptosporidium	
1	1	0	0	1	2
2	0	1	0	1	2
3	0	1	0	1	2
4	0	1	0	1	2
5	1	1	0	1	3
	2	4	0	5	11

11

Valutazione trasferimento anticorpale (vitelli 3-5gg di vita)

pre-protocollo				post-protocollo		
1	600	mg/dl		1	1200	mg/dl
2	1000	mg/dl		2	1000	mg/dl
3	1000	mg/dl		3	1200	mg/dl
4	800	mg/dl		4	1000	mg/dl
5	1000	mg/dl	DELTA	5	1000	mg/dl
media	880	mg/dl	200	media	1080	mg/dl
			mg/dl			

Valutazione colostro

primipare				pluripare		
1	50	mg/ml		1	95	mg/ml
2	60	mg/ml		2	95	mg/ml
3	50	mg/ml		3	30	mg/ml
4	50	mg/ml		4	110	mg/ml
5	110	mg/ml		5	95	mg/ml
media	64				85	

Valutazione diarrea in vitelli di età < a 30gg

	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	2	9	5	2	18	3
pre-protocollo	11%	50%	28%	11%	100%	17%
	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	6	0	1	14	21	1
post-protocollo	29%	0%	5%	67%	100%	5%

*: animali deceduti entro il mese di vita per cause legate alla diarrea (inclusi nel numero dei sintomatici).

	numero	%
totale vitelli in diarrea pre-protocollo	16	89%
totale vitelli in diarrea post-protocollo	7	33%
totale vitelli morti pre-protocollo	3	17%
totale vitelli morti post-protocollo	1	5%

Sala parto

lettiera cuccetta infermeria corsia
 numero di interventi di pulizia per settimana

Ricoveri vitelli

gabbietta igloo box multipli (sotto i 30gg)

Colostratura

raccolta del colostro alla mungitura dopo il parto
 intervallo nascita prima colostratura
 numero di pasti al giorno
 quantità fornita per pasto

Azienda n. 19

Agenti eziologici riscontrati

	Rotavirus	Coronavirus	<i>E. coli</i> (F5)	Cryptosporidium	
1	0	0	1	1	2
2	1	1	0	0	2
3	1	0	1	0	2
4	0	1	0	0	1
5	1	1	0	1	3
	3	3	2	2	10

10

Valutazione trasferimento anticorpale (vitelli 3-5gg di vita)

pre-protocollo				post-protocollo		
1	600	mg/dl		1	1000	mg/dl
2	600	mg/dl		2	1200	mg/dl
3	600	mg/dl		3	1200	mg/dl
4	800	mg/dl		4	1200	mg/dl
5	1000	mg/dl	DELTA	5	1200	mg/dl
media	720	mg/dl	440	media	1160	mg/dl
			mg/dl			

Valutazione colostro

primipare				pluripare		
1	40	mg/ml		1	40	mg/ml
2	30	mg/ml		2	40	mg/ml
3	95	mg/ml		3	110	mg/ml
4	40	mg/ml		4	60	mg/ml
5	110	mg/ml		5	40	mg/ml
media	63				58	

Valutazione diarrea in vitelli di età < a 30gg

	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	14	2	1	19	36	1
pre-protocollo	39%	6%	3%	53%	100%	3%
	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	7	1	0	30	38	1
post-protocollo	18%	3%	0%	79%	100%	3%

*: animali deceduti entro il mese di vita per cause legate alla diarrea (inclusi nel numero dei sintomatici).

	numero	%
totale vitelli in diarrea pre-protocollo	17	47%
totale vitelli in diarrea post-protocollo	8	21%
totale vitelli morti pre-protocollo	1	3%
totale vitelli morti post-protocollo	1	3%

Sala parto

lettiera cuccetta infermeria corsia
 numero di interventi di pulizia per settimana

Ricoveri vitelli

gabbietta igloo box multipli (sotto i 30gg)

Colostratura

raccolta del colostro alla mungitura dopo il parto
 intervallo nascita prima colostratura
 numero di pasti al giorno
 quantità fornita per pasto

Azienda n. 20

Agenti eziologici riscontrati

	Rotavirus	Coronavirus	E. coli (F5)	Cryptosporidium	
1	1	1	0	0	2
2	0	1	0	0	1
3	0	0	1	0	1
4	1	0	1	0	2
5	0	1	1	0	2
	2	3	3	0	8

8

Valutazione trasferimento anticorpale (vitelli 3-5gg di vita)

pre-protocollo				post-protocollo		
1	800	mg/dl		1	1200	mg/dl
2	1200	mg/dl		2	1200	mg/dl
3	600	mg/dl		3	1000	mg/dl
4	1200	mg/dl		4	1200	mg/dl
5	1200	mg/dl	DELTA	5	1200	mg/dl
media	1000	mg/dl	160	media	1160	mg/dl
			mg/dl			

Valutazione colostro

primipare			pluripare		
1	50	mg/ml	1	50	mg/ml
2	95	mg/ml	2	50	mg/ml
3	40	mg/ml	3	60	mg/ml
4	40	mg/ml	4	110	mg/ml
5	30	mg/ml	5	60	mg/ml
media	51			66	

Valutazione diarrea in vitelli di età < a 30gg

	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	21	4	6	15	46	3
pre-protocollo	46%	9%	13%	33%	100%	7%
	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	4	2	0	51	57	1
post-protocollo	7%	4%	0%	89%	100%	2%

*: animali deceduti entro il mese di vita per cause legate alla diarrea (inclusi nel numero dei sintomatici).

	numero	%
totale vitelli in diarrea pre-protocollo	31	67%
totale vitelli in diarrea post-protocollo	6	11%
totale vitelli morti pre-protocollo	3	7%
totale vitelli morti post-protocollo	1	2%

Sala parto

lettiera cuccetta infermeria corsia
 numero di interventi di pulizia per settimana

Ricoveri vitelli

gabbietta igloo box multipli (sotto i 30gg)

Colostratura

raccolta del colostro alla mungitura dopo il parto
 intervallo nascita prima colostratura
 numero di pasti al giorno
 quantità fornita per pasto

Azienda n. 21

Agenti eziologici riscontrati

	Rotavirus	Coronavirus	<i>E. coli</i> (F5)	Cryptosporidium	
1	1	1	0	0	2
2	1	1	0	0	2
3	1	1	0	1	3
4	0	1	0	0	1
5	0	1	0	0	1
	3	5	0	1	9

9

Valutazione trasferimento anticorpale (vitelli 3-5gg di vita)

pre-protocollo				post-protocollo		
1	1000	mg/dl		1	1200	mg/dl
2	1200	mg/dl		2	1000	mg/dl
3	1200	mg/dl		3	1200	mg/dl
4	800	mg/dl		4	1200	mg/dl
5	600	mg/dl	DELTA	5	1200	mg/dl
media	960	mg/dl	200	media	1160	mg/dl
			mg/dl			

Valutazione colostro

primipare				pluripare		
1	95	mg/ml		1	30	mg/ml
2	95	mg/ml		2	95	mg/ml
3	30	mg/ml		3	110	mg/ml
4	40	mg/ml		4	50	mg/ml
5	75	mg/ml		5	35	mg/ml
media	67				64	

Valutazione diarrea in vitelli di età < a 30gg

	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	33	5	0	7	45	2
pre-protocollo	73%	11%	0%	16%	100%	4%
	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	4	1	0	31	36	0
post-protocollo	11%	3%	0%	86%	100%	0%

*: animali deceduti entro il mese di vita per cause legate alla diarrea (inclusi nel numero dei sintomatici).

	numero	%
totale vitelli in diarrea pre-protocollo	38	84%
totale vitelli in diarrea post-protocollo	5	14%
totale vitelli morti pre-protocollo	2	4%
totale vitelli morti post-protocollo	0	0%

Sala parto

lettiera cuccetta infermeria corsia
 numero di interventi di pulizia per settimana

Ricoveri vitelli

gabbietta igloo box multipli (sotto i 30gg)

Colostratura

raccolta del colostro alla mungitura dopo il parto
 intervallo nascita prima colostratura
 numero di pasti al giorno
 quantità fornita per pasto

Azienda n. 22

Agenti eziologici riscontrati

	Rotavirus	Coronavirus	E. coli (F5)	Cryptosporidium	
1	0	1	1	1	3
2	1	0	0	0	1
3	1	1	0	1	3
4	0	1	1	0	2
5	0	0	1	1	2
	2	3	3	3	11

11

Valutazione trasferimento anticorpale (vitelli 3-5gg di vita)

pre-protocollo				post-protocollo		
1	800	mg/dl		1	1200	mg/dl
2	1000	mg/dl		2	1200	mg/dl
3	800	mg/dl		3	1000	mg/dl
4	600	mg/dl		4	1000	mg/dl
5	600	mg/dl	DELTA	5	800	mg/dl
media	760	mg/dl	280	media	1040	mg/dl
			mg/dl			

Valutazione colostro

primipare				pluripare		
1	60	mg/ml		1	60	mg/ml
2	95	mg/ml		2	40	mg/ml
3	40	mg/ml		3	95	mg/ml
4	40	mg/ml		4	60	mg/ml
5	95	mg/ml		5	110	mg/ml
media	66				73	

Valutazione diarrea in vitelli di età < a 30gg

	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	26	6	2	10	44	4
pre-protocollo	59%	14%	5%	23%	100%	9%
	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	5	1	0	41	47	2
post-protocollo	11%	2%	0%	87%	100%	4%

*: animali deceduti entro il mese di vita per cause legate alla diarrea (inclusi nel numero dei sintomatici).

	numero	%
totale vitelli in diarrea pre-protocollo	34	77%
totale vitelli in diarrea post-protocollo	6	13%
totale vitelli morti pre-protocollo	4	9%
totale vitelli morti post-protocollo	2	4%

Sala parto

lettiera cuccetta infermeria corsia
 numero di interventi di pulizia per settimana

Ricoveri vitelli

gabbietta igloo box multipli (sotto i 30gg)

Colostratura

raccolta del colostro alla mungitura dopo il parto
 intervallo nascita prima colostratura
 numero di pasti al giorno
 quantità fornita per pasto

Azienda n. 23

Agenti eziologici riscontrati

	Rotavirus	Coronavirus	<i>E. coli</i> (F5)	Cryptosporidium	
1	1	1	0	0	2
2	0	1	0	0	1
3	1	1	0	0	2
4	1	0	0	0	1
5	1	0	0	0	1
	4	3	0	0	7

7

Valutazione trasferimento anticorpale (vitelli 3-5gg di vita)

pre-protocollo				post-protocollo		
1	800	mg/dl		1	1200	mg/dl
2	1200	mg/dl		2	1000	mg/dl
3	800	mg/dl		3	1200	mg/dl
4	1000	mg/dl		4	1200	mg/dl
5	1000	mg/dl	DELTA	5	1000	mg/dl
media	960	mg/dl	160	media	1120	mg/dl
			mg/dl			

Valutazione colostro

primipare				pluripare		
1	50	mg/ml		1	70	mg/ml
2	30	mg/ml		2	40	mg/ml
3	95	mg/ml		3	95	mg/ml
4	40	mg/ml		4	50	mg/ml
5	60	mg/ml		5	40	mg/ml
media	55				59	

Valutazione diarrea in vitelli di età < a 30gg

	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	11	4	1	28	44	2
pre-protocollo	25%	9%	2%	64%	100%	5%
	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	4	1	2	30	37	2
post-protocollo	11%	3%	5%	81%	100%	5%

*: animali deceduti entro il mese di vita per cause legate alla diarrea (inclusi nel numero dei sintomatici).

	numero	%
totale vitelli in diarrea pre-protocollo	16	36%
totale vitelli in diarrea post-protocollo	7	19%
totale vitelli morti pre-protocollo	2	5%
totale vitelli morti post-protocollo	2	5%

Sala parto

lettiera cuccetta infermeria corsia
 numero di interventi di pulizia per settimana

Ricoveri vitelli

gabbietta igloo box multipli (sotto i 30gg)

Colostratura

raccolta del colostro alla mungitura dopo il parto
 intervallo nascita prima colostratura
 numero di pasti al giorno
 quantità fornita per pasto

Azienda n. 24

Agenti eziologici riscontrati

	Rotavirus	Coronavirus	<i>E. coli</i> (F5)	Cryptosporidium	
1	0	1	0	0	1
2	1	1	0	0	2
3	0	1	0	0	1
4	1	0	0	0	1
5	1	1	0	0	2
	3	4	0	0	7

7

Valutazione trasferimento anticorpale (vitelli 3-5gg di vita)

pre-protocollo				post-protocollo		
1	1000	mg/dl		1	1000	mg/dl
2	1200	mg/dl		2	1200	mg/dl
3	600	mg/dl		3	1000	mg/dl
4	1200	mg/dl		4	1200	mg/dl
5	1200	mg/dl	DELTA	5	800	mg/dl
media	1040	mg/dl	0	media	1040	mg/dl
			mg/dl			

Valutazione colostro

primipare				pluripare		
1	60	mg/ml		1	40	mg/ml
2	40	mg/ml		2	60	mg/ml
3	110	mg/ml		3	125	mg/ml
4	75	mg/ml		4	75	mg/ml
5	70	mg/ml		5	95	mg/ml
media	71				79	

Valutazione diarrea in vitelli di età < a 30gg

	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	36	7	4	3	50	6
pre-protocollo	72%	14%	8%	6%	100%	12%
	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	2	0	1	51	54	2
post-protocollo	4%	0%	2%	94%	100%	4%

*: animali deceduti entro il mese di vita per cause legate alla diarrea (inclusi nel numero dei sintomatici).

	numero	%
totale vitelli in diarrea pre-protocollo	47	94%
totale vitelli in diarrea post-protocollo	3	6%
totale vitelli morti pre-protocollo	6	12%
totale vitelli morti post-protocollo	2	4%

Sala parto

lettiera cuccetta infermeria corsia
 numero di interventi di pulizia per settimana

Ricoveri vitelli

gabbietta igloo box multipli (sotto i 30gg)

Colostratura

raccolta del colostro alla mungitura dopo il parto
 intervallo nascita prima colostratura
 numero di pasti al giorno
 quantità fornita per pasto

Azienda n. 25

Agenti eziologici riscontrati

	Rotavirus	Coronavirus	<i>E. coli</i> (F5)	Cryptosporidium	
1	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0

Valutazione trasferimento anticorpale (vitelli 3-5gg di vita)

pre-protocollo				post-protocollo		
1	1000	mg/dl		1	1200	mg/dl
2	1200	mg/dl		2	1200	mg/dl
3	1200	mg/dl		3	1000	mg/dl
4	1200	mg/dl		4	1200	mg/dl
5	1000	mg/dl	DELTA	5	1200	mg/dl
media	1120	mg/dl	40	media	1160	mg/dl
			mg/dl			

Valutazione colostro

primipare				pluripare		
1	40	mg/ml		1	70	mg/ml
2	50	mg/ml		2	60	mg/ml
3	60	mg/ml		3	60	mg/ml
4	40	mg/ml		4	40	mg/ml
5	70	mg/ml		5	95	mg/ml
media	52				65	

Valutazione diarrea in vitelli di età < a 30gg

	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	12	2	3	15	32	4
pre-protocollo	38%	6%	9%	47%	100%	13%
	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	15	1	4	17	37	5
post-protocollo	41%	3%	11%	46%	100%	14%

*: animali deceduti entro il mese di vita per cause legate alla diarrea (inclusi nel numero dei sintomatici).

	numero	%
totale vitelli in diarrea pre-protocollo	17	53%
totale vitelli in diarrea post-protocollo	20	54%
totale vitelli morti pre-protocollo	4	13%
totale vitelli morti post-protocollo	5	14%

Sala parto

lettiera cuccetta infermeria corsia
 numero di interventi di pulizia per settimana

Ricoveri vitelli

gabbietta igloo box multipli (sotto i 30gg)

Colostratura

raccolta del colostro alla mungitura dopo il parto
 intervallo nascita prima colostratura
 numero di pasti al giorno
 quantità fornita per pasto

Azienda n. 26

Agenti eziologici riscontrati

	Rotavirus	Coronavirus	<i>E. coli</i> (F5)	Cryptosporidium	
1	1	1	0	1	3
2	1	0	0	1	2
3	1	1	0	0	2
4	1	0	0	0	1
5	0	1	0	1	2
	4	3	0	3	10

10

Valutazione trasferimento anticorpale (vitelli 3-5gg di vita)

pre-protocollo				post-protocollo		
1	1000	mg/dl		1	1200	mg/dl
2	1200	mg/dl		2	1000	mg/dl
3	600	mg/dl		3	1000	mg/dl
4	1000	mg/dl		4	1200	mg/dl
5	1000	mg/dl	DELTA	5	1000	mg/dl
media	960	mg/dl	120	media	1080	mg/dl
			mg/dl			

Valutazione colostro

primipare				pluripare		
1	60	mg/ml		1	50	mg/ml
2	110	mg/ml		2	60	mg/ml
3	50	mg/ml		3	110	mg/ml
4	95	mg/ml		4	95	mg/ml
5	60	mg/ml		5	60	mg/ml
media	75				75	

Valutazione diarrea in vitelli di età < a 30gg

	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	6	4	1	11	22	0
pre-protocollo	27%	18%	5%	50%	100%	0%
	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	1	3	0	15	19	1
post-protocollo	5%	16%	0%	79%	100%	5%

*: animali deceduti entro il mese di vita per cause legate alla diarrea (inclusi nel numero dei sintomatici).

	numero	%
totale vitelli in diarrea pre-protocollo	11	50%
totale vitelli in diarrea post-protocollo	4	21%
totale vitelli morti pre-protocollo	0	0%
totale vitelli morti post-protocollo	1	5%

Sala parto

lettiera cuccetta infermeria corsia
 numero di interventi di pulizia per settimana

Ricoveri vitelli

gabbietta igloo box multipli (sotto i 30gg)

Colostratura

raccolta del colostro alla mungitura dopo il parto
 intervallo nascita prima colostratura
 numero di pasti al giorno
 quantità fornita per pasto

Azienda n. 27

Agenti eziologici riscontrati

	Rotavirus	Coronavirus	<i>E. coli</i> (F5)	Cryptosporidium	
1	0	1	0	0	1
2	1	0	0	0	1
3	1	1	0	0	2
4	0	1	0	0	1
5	0	0	0	0	0
	2	3	0	0	5

5

Valutazione trasferimento anticorpale (vitelli 3-5gg di vita)

pre-protocollo				post-protocollo		
1	1200	mg/dl		1	1200	mg/dl
2	1200	mg/dl		2	1000	mg/dl
3	1000	mg/dl		3	1200	mg/dl
4	600	mg/dl		4	1200	mg/dl
5	1000	mg/dl	DELTA	5	1200	mg/dl
media	1000	mg/dl	160	media	1160	mg/dl
			mg/dl			

Valutazione colostro

primipare				pluripare		
1	95	mg/ml		1	95	mg/ml
2	40	mg/ml		2	60	mg/ml
3	60	mg/ml		3	50	mg/ml
4	60	mg/ml		4	40	mg/ml
5	95	mg/ml		5	110	mg/ml
media	70				71	

Valutazione diarrea in vitelli di età < a 30gg

	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	8	11	1	7	27	1
pre-protocollo	30%	41%	4%	26%	100%	4%
	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	6	1	1	21	29	1
post-protocollo	21%	3%	3%	72%	100%	3%

*: animali deceduti entro il mese di vita per cause legate alla diarrea (inclusi nel numero dei sintomatici).

	numero	%
totale vitelli in diarrea pre-protocollo	20	74%
totale vitelli in diarrea post-protocollo	8	28%
totale vitelli morti pre-protocollo	1	4%
totale vitelli morti post-protocollo	1	3%

Sala parto

lettiera cuccetta infermeria corsia
 numero di interventi di pulizia per settimana

Ricoveri vitelli

gabbietta igloo box multipli (sotto i 30gg)

Colostratura

raccolta del colostro alla mungitura dopo il parto
 intervallo nascita prima colostratura
 numero di pasti al giorno
 quantità fornita per pasto

Azienda n. 28

Agenti eziologici riscontrati

	Rotavirus	Coronavirus	<i>E. coli</i> (F5)	Cryptosporidium	
1	0	1	0	0	1
2	0	1	0	0	1
3	1	1	0	0	2
4	1	1	0	0	2
5	1	0	0	0	1
	3	4	0	0	7

7

Valutazione trasferimento anticorpale (vitelli 3-5gg di vita)

pre-protocollo				post-protocollo		
1	800	mg/dl		1	1200	mg/dl
2	1000	mg/dl		2	1200	mg/dl
3	600	mg/dl		3	1000	mg/dl
4	600	mg/dl		4	800	mg/dl
5	800	mg/dl	DELTA	5	1200	mg/dl
media	760	mg/dl	320	media	1080	mg/dl
			mg/dl			

Valutazione colostro

primipare				pluripare		
1	35	mg/ml		1	95	mg/ml
2	95	mg/ml		2	60	mg/ml
3	40	mg/ml		3	110	mg/ml
4	35	mg/ml		4	40	mg/ml
5	30	mg/ml		5	60	mg/ml
media	47				73	

Valutazione diarrea in vitelli di età < a 30gg

	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	29	10	6	7	52	5
pre-protocollo	56%	19%	12%	13%	100%	10%
	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	11	2	1	47	61	2
post-protocollo	18%	3%	2%	77%	100%	3%

*: animali deceduti entro il mese di vita per cause legate alla diarrea (inclusi nel numero dei sintomatici).

	numero	%
totale vitelli in diarrea pre-protocollo	45	87%
totale vitelli in diarrea post-protocollo	14	23%
totale vitelli morti pre-protocollo	5	10%
totale vitelli morti post-protocollo	2	3%

Sala parto

lettiera cuccetta infermeria corsia
 numero di interventi di pulizia per settimana

Ricoveri vitelli

gabbietta igloo box multipli (sotto i 30gg)

Colostratura

raccolta del colostro alla mungitura dopo il parto
 intervallo nascita prima colostratura
 numero di pasti al giorno
 quantità fornita per pasto

Azienda n. 29

Agenti eziologici riscontrati

	Rotavirus	Coronavirus	<i>E. coli</i> (F5)	Cryptosporidium	
1	1	1	0	0	2
2	0	0	0	0	0
3	1	0	0	0	1
4	0	1	0	0	1
5	0	1	0	0	1
	2	3	0	0	5

5

Valutazione trasferimento anticorpale (vitelli 3-5gg di vita)

pre-protocollo				post-protocollo		
1	1200	mg/dl		1	600	mg/dl
2	600	mg/dl		2	1200	mg/dl
3	1200	mg/dl		3	1200	mg/dl
4	1200	mg/dl		4	1200	mg/dl
5	1200	mg/dl	DELTA	5	1200	mg/dl
media	1080	mg/dl	0	media	1080	mg/dl
			mg/dl			

Valutazione colostro

primipare				pluripare		
1	30	mg/ml		1	40	mg/ml
2	40	mg/ml		2	60	mg/ml
3	60	mg/ml		3	125	mg/ml
4	110	mg/ml		4	95	mg/ml
5	40	mg/ml		5	40	mg/ml
media	56				72	

Valutazione diarrea in vitelli di età < a 30gg

	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	2	1	1	38	42	1
pre-protocollo	5%	2%	2%	90%	100%	2%
	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	1	0	1	41	43	1
post-protocollo	2%	0%	2%	95%	100%	2%

*: animali deceduti entro il mese di vita per cause legate alla diarrea (inclusi nel numero dei sintomatici).

	numero	%
totale vitelli in diarrea pre-protocollo	4	10%
totale vitelli in diarrea post-protocollo	2	5%
totale vitelli morti pre-protocollo	1	2%
totale vitelli morti post-protocollo	1	2%

Sala parto

lettiera cuccetta infermeria corsia
 numero di interventi di pulizia per settimana

Ricoveri vitelli

gabbietta igloo box multipli (sotto i 30gg)

Colostratura

raccolta del colostro alla mungitura dopo il parto
 intervallo nascita prima colostratura
 numero di pasti al giorno
 quantità fornita per pasto

Azienda n. 30

Agenti eziologici riscontrati

	Rotavirus	Coronavirus	<i>E. coli</i> (F5)	Cryptosporidium	
1	1	1	0	0	2
2	1	0	0	0	1
3	0	0	0	1	1
4	0	1	0	1	2
5	0	0	0	1	1
	2	2	0	3	7

7

Valutazione trasferimento anticorpale (vitelli 3-5gg di vita)

pre-protocollo				post-protocollo		
1	1000	mg/dl		1	1200	mg/dl
2	600	mg/dl		2	1200	mg/dl
3	1000	mg/dl		3	1200	mg/dl
4	1000	mg/dl		4	1200	mg/dl
5	600	mg/dl	DELTA	5	1200	mg/dl
media	840	mg/dl	360	media	1200	mg/dl
			mg/dl			

Valutazione colostro

primipare				pluripare		
1	30	mg/ml		1	110	mg/ml
2	60	mg/ml		2	50	mg/ml
3	60	mg/ml		3	75	mg/ml
4	110	mg/ml		4	50	mg/ml
5	95	mg/ml		5	40	mg/ml
media	71				65	

Valutazione diarrea in vitelli di età < a 30gg

	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	12	1	0	21	34	4
pre-protocollo	35%	3%	0%	62%	100%	12%
	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	5	0	0	33	38	1
post-protocollo	13%	0%	0%	87%	100%	3%

*: animali deceduti entro il mese di vita per cause legate alla diarrea (inclusi nel numero dei sintomatici).

	numero	%
totale vitelli in diarrea pre-protocollo	13	38%
totale vitelli in diarrea post-protocollo	5	13%
totale vitelli morti pre-protocollo	4	12%
totale vitelli morti post-protocollo	1	3%

Sala parto

lettiera cuccetta infermeria corsia
 numero di interventi di pulizia per settimana

Ricoveri vitelli

gabbietta igloo box multipli (sotto i 30gg)

Colostratura

raccolta del colostro alla mungitura dopo il parto
 intervallo nascita prima colostratura
 numero di pasti al giorno
 quantità fornita per pasto

Azienda n. 31

Agenti eziologici riscontrati

	Rotavirus	Coronavirus	<i>E. coli</i> (F5)	Cryptosporidium	
1	1	1	0	0	2
2	0	1	1	0	2
3	1	1	1	0	3
4	1	1	1	0	3
5	1	1	0	0	2
	4	5	3	0	12

12

Valutazione trasferimento anticorpale (vitelli 3-5gg di vita)

pre-protocollo				post-protocollo		
1	800	mg/dl		1	1200	mg/dl
2	1000	mg/dl		2	1200	mg/dl
3	600	mg/dl		3	1000	mg/dl
4	1000	mg/dl		4	1000	mg/dl
5	800	mg/dl	DELTA	5	1200	mg/dl
media	840	mg/dl	280	media	1120	mg/dl
			mg/dl			

Valutazione colostro

primipare				pluripare		
1	60	mg/ml		1	95	mg/ml
2	50	mg/ml		2	40	mg/ml
3	40	mg/ml		3	60	mg/ml
4	35	mg/ml		4	110	mg/ml
5	75	mg/ml		5	60	mg/ml
media	52				73	

Valutazione diarrea in vitelli di età < a 30gg

	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	18	5	5	0	28	3
pre-protocollo	64%	18%	18%	0%	100%	11%
	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	10	0	0	26	36	1
post-protocollo	28%	0%	0%	72%	100%	3%

*: animali deceduti entro il mese di vita per cause legate alla diarrea (inclusi nel numero dei sintomatici).

	numero	%
totale vitelli in diarrea pre-protocollo	28	100%
totale vitelli in diarrea post-protocollo	10	28%
totale vitelli morti pre-protocollo	3	11%
totale vitelli morti post-protocollo	1	3%

Sala parto

lettiera cuccetta infermeria corsia
 numero di interventi di pulizia per settimana

Ricoveri vitelli

gabbietta igloo box multipli (sotto i 30gg)

Colostratura

raccolta del colostro alla mungitura dopo il parto
 intervallo nascita prima colostratura
 numero di pasti al giorno
 quantità fornita per pasto

Azienda n. 32

Agenti eziologici riscontrati

	Rotavirus	Coronavirus	<i>E. coli</i> (F5)	Cryptosporidium	
1	0	1	0	0	1
2	1	0	0	0	1
3	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0
5	1	1	0	0	2
	2	2	0	0	4

4

Valutazione trasferimento anticorpale (vitelli 3-5gg di vita)

pre-protocollo				post-protocollo		
1	800	mg/dl		1	1000	mg/dl
2	600	mg/dl		2	1200	mg/dl
3	1200	mg/dl		3	1200	mg/dl
4	800	mg/dl		4	1000	mg/dl
5	1000	mg/dl	DELTA	5	1200	mg/dl
media	880	mg/dl	240	media	1120	mg/dl
			mg/dl			

Valutazione colostro

primipare				pluripare		
1	50	mg/ml		1	50	mg/ml
2	60	mg/ml		2	75	mg/ml
3	40	mg/ml		3	70	mg/ml
4	50	mg/ml		4	110	mg/ml
5	70	mg/ml		5	95	mg/ml
media	54				80	

Valutazione diarrea in vitelli di età < a 30gg

	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	2	21	5	7	35	1
pre-protocollo	6%	60%	14%	20%	100%	3%
	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	7	1	0	34	42	1
post-protocollo	17%	2%	0%	81%	100%	2%

*: animali deceduti entro il mese di vita per cause legate alla diarrea (inclusi nel numero dei sintomatici).

	numero	%
totale vitelli in diarrea pre-protocollo	28	80%
totale vitelli in diarrea post-protocollo	8	19%
totale vitelli morti pre-protocollo	1	3%
totale vitelli morti post-protocollo	1	2%

Sala parto

lettiera cuccetta infermeria corsia
 numero di interventi di pulizia per settimana

Ricoveri vitelli

gabbietta igloo box multipli (sotto i 30gg)

Colostratura

raccolta del colostro alla mungitura dopo il parto
 intervallo nascita prima colostratura
 numero di pasti al giorno
 quantità fornita per pasto

Azienda n. 33

Agenti eziologici riscontrati

	Rotavirus	Coronavirus	<i>E. coli</i> (F5)	Cryptosporidium	
1	1	0	1	0	2
2	1	1	1	0	3
3	0	0	0	1	1
4	0	1	0	0	1
5	0	0	1	1	2
	2	2	3	2	9

9

Valutazione trasferimento anticorpale (vitelli 3-5gg di vita)

pre-protocollo				post-protocollo		
1	600	mg/dl		1	1200	mg/dl
2	600	mg/dl		2	1200	mg/dl
3	1000	mg/dl		3	1200	mg/dl
4	1000	mg/dl		4	1200	mg/dl
5	800	mg/dl	DELTA	5	1000	mg/dl
media	800	mg/dl	360	media	1160	mg/dl
			mg/dl			

Valutazione colostro

primipare				pluripare		
1	40	mg/ml		1	40	mg/ml
2	60	mg/ml		2	60	mg/ml
3	40	mg/ml		3	60	mg/ml
4	110	mg/ml		4	50	mg/ml
5	110	mg/ml		5	110	mg/ml
media	72				64	

Valutazione diarrea in vitelli di età < a 30gg

	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	4	9	3	12	28	3
pre-protocollo	14%	32%	11%	43%	100%	11%
	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	5	1	0	19	25	0
post-protocollo	20%	4%	0%	76%	100%	0%

*: animali deceduti entro il mese di vita per cause legate alla diarrea (inclusi nel numero dei sintomatici).

	numero	%
totale vitelli in diarrea pre-protocollo	16	57%
totale vitelli in diarrea post-protocollo	6	24%
totale vitelli morti pre-protocollo	3	11%
totale vitelli morti post-protocollo	0	0%

Sala parto

lettiera cuccetta infermeria corsia
 numero di interventi di pulizia per settimana

Ricoveri vitelli

gabbietta igloo box multipli (sotto i 30gg)

Colostratura

raccolta del colostro alla mungitura dopo il parto
 intervallo nascita prima colostratura
 numero di pasti al giorno
 quantità fornita per pasto

Azienda n. 34

Agenti eziologici riscontrati

	Rotavirus	Coronavirus	<i>E. coli</i> (F5)	Cryptosporidium	
1	0	0	0	0	0
2	1	1	0	0	2
3	1	1	0	0	2
4	1	1	0	1	3
5	1	1	0	0	2
	4	4	0	1	9

9

Valutazione trasferimento anticorpale (vitelli 3-5gg di vita)

pre-protocollo				post-protocollo		
1	1200	mg/dl		1	1200	mg/dl
2	1000	mg/dl		2	800	mg/dl
3	1000	mg/dl		3	800	mg/dl
4	1000	mg/dl		4	1000	mg/dl
5	1000	mg/dl	DELTA	5	1200	mg/dl
media	1040	mg/dl	-40	media	1000	mg/dl
			mg/dl			

Valutazione colostro

primipare				pluripare		
1	95	mg/ml		1	95	mg/ml
2	40	mg/ml		2	75	mg/ml
3	110	mg/ml		3	60	mg/ml
4	40	mg/ml		4	30	mg/ml
5	50	mg/ml		5	60	mg/ml
media	67				64	

Valutazione diarrea in vitelli di età < a 30gg

	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	21	13	5	0	39	4
pre-protocollo	54%	33%	13%	0%	100%	10%
	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	18	11	1	7	37	3
post-protocollo	49%	30%	3%	19%	100%	8%

*: animali deceduti entro il mese di vita per cause legate alla diarrea (inclusi nel numero dei sintomatici).

	numero	%
totale vitelli in diarrea pre-protocollo	39	100%
totale vitelli in diarrea post-protocollo	30	81%
totale vitelli morti pre-protocollo	4	10%
totale vitelli morti post-protocollo	3	8%

Sala parto

lettiera cuccetta infermeria corsia
 numero di interventi di pulizia per settimana

Ricoveri vitelli

gabbietta igloo box multipli (sotto i 30gg)

Colostratura

raccolta del colostro alla mungitura dopo il parto
 intervallo nascita prima colostratura
 numero di pasti al giorno
 quantità fornita per pasto

Azienda n. 35

Agenti eziologici riscontrati

	Rotavirus	Coronavirus	<i>E. coli</i> (F5)	Cryptosporidium	
1	0	1	0	0	1
2	0	0	0	1	1
3	1	0	0	1	2
4	0	0	0	0	0
5	1	0	0	0	1
	2	1	0	2	5

5

Valutazione trasferimento anticorpale (vitelli 3-5gg di vita)

pre-protocollo				post-protocollo		
1	600	mg/dl		1	1000	mg/dl
2	800	mg/dl		2	1200	mg/dl
3	600	mg/dl		3	1200	mg/dl
4	1200	mg/dl		4	1200	mg/dl
5	600	mg/dl	DELTA	5	1200	mg/dl
media	760	mg/dl	400	media	1160	mg/dl
			mg/dl			

Valutazione colostro

primipare				pluripare		
1	30	mg/ml		1	95	mg/ml
2	60	mg/ml		2	75	mg/ml
3	70	mg/ml		3	30	mg/ml
4	40	mg/ml		4	40	mg/ml
5	60	mg/ml		5	60	mg/ml
media	52				60	

Valutazione diarrea in vitelli di età < a 30gg

	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	17	1	1	32	51	3
pre-protocollo	33%	2%	2%	63%	100%	6%
	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	8	0	0	39	47	2
post-protocollo	17%	0%	0%	83%	100%	4%

*: animali deceduti entro il mese di vita per cause legate alla diarrea (inclusi nel numero dei sintomatici).

	numero	%
totale vitelli in diarrea pre-protocollo	19	37%
totale vitelli in diarrea post-protocollo	8	17%
totale vitelli morti pre-protocollo	3	6%
totale vitelli morti post-protocollo	2	4%

Sala parto

lettiera cuccetta infermeria corsia
 numero di interventi di pulizia per settimana

Ricoveri vitelli

gabbietta igloo box multipli (sotto i 30gg)

Colostratura

raccolta del colostro alla mungitura dopo il parto
 intervallo nascita prima colostratura
 numero di pasti al giorno
 quantità fornita per pasto

Azienda n. 36

Agenti eziologici riscontrati

	Rotavirus	Coronavirus	<i>E. coli</i> (F5)	Cryptosporidium	
1	0	0	0	0	0
2	1	0	0	0	1
3	0	0	0	0	0
4	1	0	0	0	1
5	0	0	0	1	1
	2	0	0	1	3

3

Valutazione trasferimento anticorpale (vitelli 3-5gg di vita)

pre-protocollo				post-protocollo		
1	800	mg/dl		1	1200	mg/dl
2	800	mg/dl		2	1200	mg/dl
3	1000	mg/dl		3	1200	mg/dl
4	1200	mg/dl		4	1200	mg/dl
5	600	mg/dl	DELTA	5	1200	mg/dl
media	880	mg/dl	320	media	1200	mg/dl
			mg/dl			

Valutazione colostro

primipare				pluripare		
1	95	mg/ml		1	40	mg/ml
2	40	mg/ml		2	60	mg/ml
3	30	mg/ml		3	40	mg/ml
4	40	mg/ml		4	60	mg/ml
5	110	mg/ml		5	95	mg/ml
media	63				59	

Valutazione diarrea in vitelli di età < a 30gg

	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	7	1	1	19	28	2
pre-protocollo	25%	4%	4%	68%	100%	7%
	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	1	0	0	34	35	1
post-protocollo	3%	0%	0%	97%	100%	3%

*: animali deceduti entro il mese di vita per cause legate alla diarrea (inclusi nel numero dei sintomatici).

	numero	%
totale vitelli in diarrea pre-protocollo	9	32%
totale vitelli in diarrea post-protocollo	1	3%
totale vitelli morti pre-protocollo	2	7%
totale vitelli morti post-protocollo	1	3%

Sala parto

lettiera cuccetta infermeria corsia
 numero di interventi di pulizia per settimana

Ricoveri vitelli

gabbietta igloo box multipli (sotto i 30gg)

Colostratura

raccolta del colostro alla mungitura dopo il parto
 intervallo nascita prima colostratura
 numero di pasti al giorno
 quantità fornita per pasto

Azienda n. 37

Agenti eziologici riscontrati

	Rotavirus	Coronavirus	<i>E. coli</i> (F5)	Cryptosporidium	
1	0	0	0	0	0
2	0	1	0	0	1
3	0	1	0	0	1
4	0	1	0	0	1
5	0	0	0	1	1
	0	3	0	1	4

4

Valutazione trasferimento anticorpale (vitelli 3-5gg di vita)

pre-protocollo				post-protocollo		
1	800	mg/dl		1	1200	mg/dl
2	1000	mg/dl		2	1200	mg/dl
3	800	mg/dl		3	1200	mg/dl
4	1200	mg/dl		4	1200	mg/dl
5	1000	mg/dl	DELTA	5	1000	mg/dl
media	960	mg/dl	200	media	1160	mg/dl
			mg/dl			

Valutazione colostro

primipare			pluripare		
1	40	mg/ml	1	95	mg/ml
2	50	mg/ml	2	40	mg/ml
3	110	mg/ml	3	110	mg/ml
4	40	mg/ml	4	95	mg/ml
5	50	mg/ml	5	75	mg/ml
media	58			83	

Valutazione diarrea in vitelli di età < a 30gg

	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	5	1	1	24	31	0
pre-protocollo	16%	3%	3%	77%	100%	0%
	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	4	0	1	31	36	1
post-protocollo	11%	0%	3%	86%	100%	3%

*: animali deceduti entro il mese di vita per cause legate alla diarrea (inclusi nel numero dei sintomatici).

	numero	%
totale vitelli in diarrea pre-protocollo	7	23%
totale vitelli in diarrea post-protocollo	5	14%
totale vitelli morti pre-protocollo	0	0%
totale vitelli morti post-protocollo	1	3%

Sala parto

lettiera cuccetta infermeria corsia
 numero di interventi di pulizia per settimana

Ricoveri vitelli

gabbietta igloo box multipli (sotto i 30gg)

Colostratura

raccolta del colostro alla mungitura dopo il parto
 intervallo nascita prima colostratura
 numero di pasti al giorno
 quantità fornita per pasto

Azienda n. 38

Agenti eziologici riscontrati

	Rotavirus	Coronavirus	<i>E. coli</i> (F5)	Cryptosporidium	
1	1	1	0	0	2
2	1	1	0	0	2
3	1	1	0	0	2
4	1	0	0	0	1
5	1	0	0	0	1
	5	3	0	0	8

8

Valutazione trasferimento anticorpale (vitelli 3-5gg di vita)

pre-protocollo				post-protocollo		
1	1000	mg/dl		1	1200	mg/dl
2	600	mg/dl		2	800	mg/dl
3	600	mg/dl		3	1200	mg/dl
4	1000	mg/dl		4	1200	mg/dl
5	1200	mg/dl	DELTA	5	1000	mg/dl
media	880	mg/dl	200	media	1080	mg/dl
			mg/dl			

Valutazione colostro

primipare			pluripare		
1	95	mg/ml	1	35	mg/ml
2	40	mg/ml	2	95	mg/ml
3	60	mg/ml	3	95	mg/ml
4	30	mg/ml	4	30	mg/ml
5	75	mg/ml	5	75	mg/ml
media	60			66	

Valutazione diarrea in vitelli di età < a 30gg

	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	10	1	0	0	11	0
pre-protocollo	91%	9%	0%	0%	100%	0%
	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	2	0	0	14	16	0
post-protocollo	13%	0%	0%	88%	100%	0%

*: animali deceduti entro il mese di vita per cause legate alla diarrea (inclusi nel numero dei sintomatici).

	numero	%
totale vitelli in diarrea pre-protocollo	11	100%
totale vitelli in diarrea post-protocollo	2	13%
totale vitelli morti pre-protocollo	0	0%
totale vitelli morti post-protocollo	0	0%

Sala parto

lettiera cuccetta infermeria corsia
 numero di interventi di pulizia per settimana

Ricoveri vitelli

gabbietta igloo box multipli (sotto i 30gg)

Colostratura

raccolta del colostro alla mungitura dopo il parto
 intervallo nascita prima colostratura
 numero di pasti al giorno
 quantità fornita per pasto

Azienda n. 39

Agenti eziologici riscontrati

	Rotavirus	Coronavirus	<i>E. coli</i> (F5)	Cryptosporidium	
1	0	1	0	1	2
2	1	1	0	0	2
3	1	1	0	1	3
4	0	0	0	0	0
5	1	1	0	0	2
	3	4	0	2	9

9

Valutazione trasferimento anticorpale (vitelli 3-5gg di vita)

pre-protocollo				post-protocollo		
1	1000	mg/dl		1	1200	mg/dl
2	1000	mg/dl		2	1200	mg/dl
3	800	mg/dl		3	1000	mg/dl
4	1200	mg/dl		4	1200	mg/dl
5	800	mg/dl	DELTA	5	800	mg/dl
media	960	mg/dl	120	media	1080	mg/dl
			mg/dl			

Valutazione colostro

primipare				pluripare		
1	50	mg/ml		1	110	mg/ml
2	110	mg/ml		2	40	mg/ml
3	35	mg/ml		3	60	mg/ml
4	60	mg/ml		4	75	mg/ml
5	40	mg/ml		5	110	mg/ml
media	59				79	

Valutazione diarrea in vitelli di età < a 30gg

	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	15	6	0	3	24	1
pre-protocollo	63%	25%	0%	13%	100%	4%
	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	4	0	1	24	29	1
post-protocollo	14%	0%	3%	83%	100%	3%

*: animali deceduti entro il mese di vita per cause legate alla diarrea (inclusi nel numero dei sintomatici).

	numero	%
totale vitelli in diarrea pre-protocollo	21	88%
totale vitelli in diarrea post-protocollo	5	17%
totale vitelli morti pre-protocollo	1	4%
totale vitelli morti post-protocollo	1	3%

Sala parto

lettiera cuccetta infermeria corsia
 numero di interventi di pulizia per settimana

Ricoveri vitelli

gabbietta igloo box multipli (sotto i 30gg)

Colostratura

raccolta del colostro alla mungitura dopo il parto
 intervallo nascita prima colostratura
 numero di pasti al giorno
 quantità fornita per pasto

Azienda n. 40

Agenti eziologici riscontrati

	Rotavirus	Coronavirus	<i>E. coli</i> (F5)	Cryptosporidium	
1	0	1	0	0	1
2	0	0	0	0	0
3	1	1	0	1	3
4	0	1	0	0	1
5	1	1	0	0	2
	2	4	0	1	7

7

Valutazione trasferimento anticorpale (vitelli 3-5gg di vita)

pre-protocollo				post-protocollo		
1	800	mg/dl		1	1200	mg/dl
2	800	mg/dl		2	800	mg/dl
3	600	mg/dl		3	1200	mg/dl
4	1000	mg/dl		4	600	mg/dl
5	1000	mg/dl	DELTA	5	1200	mg/dl
media	840	mg/dl	160	media	1000	mg/dl
			mg/dl			

Valutazione colostro

primipare				pluripare		
1	110	mg/ml		1	95	mg/ml
2	60	mg/ml		2	60	mg/ml
3	60	mg/ml		3	70	mg/ml
4	40	mg/ml		4	110	mg/ml
5	60	mg/ml		5	95	mg/ml
media	66				86	

Valutazione diarrea in vitelli di età < a 30gg

	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	23	5	2	24	54	3
pre-protocollo	43%	9%	4%	44%	100%	6%
	lieve	moderata	grave	no diarrea	tot vitelli	morti*
3 mesi	15	0	0	44	59	2
post-protocollo	25%	0%	0%	75%	100%	3%

*: animali deceduti entro il mese di vita per cause legate alla diarrea (inclusi nel numero dei sintomatici).

	numero	%
totale vitelli in diarrea pre-protocollo	30	56%
totale vitelli in diarrea post-protocollo	15	25%
totale vitelli morti pre-protocollo	3	6%
totale vitelli morti post-protocollo	2	3%

Sala parto

lettiera cuccetta infermeria corsia
 numero di interventi di pulizia per settimana

Ricoveri vitelli

gabbietta igloo box multipli (sotto i 30gg)

Colostratura

raccolta del colostro alla mungitura dopo il parto
 intervallo nascita prima colostratura
 numero di pasti al giorno
 quantità fornita per pasto

Discussione

Nel presente studio si è testata l'efficacia di un protocollo gestionale e vaccinale atto alla prevenzione della diarrea neonatale del vitello. Essendo tale patologia provocata da numerosi fattori (Barrington et al., 2002; Jayappa et al., 2008; Moon et al., 1978), si è cercato di stendere un protocollo che potesse prendere in considerazione molti aspetti potenzialmente coinvolti nella genesi della malattia. Uno dei punti fondamentali è quello igienico sanitario, infatti l'ambiente in cui nascono e crescono i vitelli è considerato, assieme alle madri, la prima fonte d'infezione dei soggetti neonati (Barrington et al., 2002). I dati raccolti durante le fase anamnestica dello studio mostrano come questo aspetto sia particolarmente trascurato sia al momento del parto, dal punto di vista dell'ambiente e della madre, sia nella fase di stabulazione dei vitelli. Indipendentemente dal tipo di ricovero in uso gli interventi di pulizia della sala parto sono in media 1,7 per settimana, in alcune stalle si arriva anche a meno di un intervento per settimana, con condizioni di sovraffollamento della sala. Qualche allevamento inoltre utilizza la sala adibita all'infermeria come sala parto, in questo locale vengono però stabulate bovine fortemente debilitate e quindi potenzialmente più escrettrici di patogeni. In alcuni casi, quando la sala parto è ricavata nel locale in cui sono stabulate le bovine in fase di asciutta, vi sono animali che partoriscono sdraiandosi direttamente nella corsia, tale area della stalla è adibita alla raccolta delle feci, quindi perennemente imbrattata di materiale fecale. Alcuni allevatori inoltre lasciano che il vitello rimanga a contatto con la madre, nella sala parto, per più di un giorno, aumentandone notevolmente il rischio di contaminazione. Per quanto riguarda la stabulazione dei vitelli e l'igiene delle strutture è stato visto che tutti gli allevatori dicono di effettuare la pulizia e la disinfezione dei locali al cambio del vitello, mentre gli strumenti utilizzati per alimentare i vitelli non sempre sono lavati e/o disinfettati. Purtroppo, per questi aspetti, non è stato possibile effettuare una raccolta dati standardizzata e

precisa, tuttavia le condizioni igieniche delle strutture e delle attrezzature al momento della prima visita erano scadenti nella maggior parte degli allevamenti. Il protocollo prevede di creare un ambiente asciutto, comodo, pulito e ben areato per accogliere le vacche in procinto di partorire. Inoltre, ove possibile è stato consigliato l'utilizzo di paglia pulita e almeno 10-14m² di lettiera o una cuccetta / capo. È da considerare che spesso uno dei principali problemi degli allevatori è la mancanza di spazio e il continuo confronto con strutture vecchie e poco pratiche da pulire.

Un altro punto cruciale nella prevenzione della diarrea neonatale è legato alla colostratura (McGuirk and Collins, 2004), come è già stato detto i vitelli nascono privi di γ -globuline, pertanto sono costretti ad assumerle dal colostro materno. La pratica di lasciare il vitello sotto la madre, in modo che si alimenti autonomamente, non è molto in uso nelle aziende a produzione latte, questo è dato dal fatto che, oltre a problemi legati alla contaminazione del capezzolo, circa il 25% dei vitelli non si alimenta autonomamente prima delle 8 ore dopo la nascita e un altro 25% non assume la corretta quantità di colostro (McGuirk and Collins, 2004). Tuttavia alcuni studi dimostrano che la somministrazione del colostro al vitello in presenza della madre migliora l'efficacia nell'assorbimento delle immunoglobuline (Selman et al., 1971). In questo caso però il vitello viene alimentato in vicinanza alla madre e non direttamente da questa, inoltre tale pratica non sarebbe facilmente utilizzabile nell'allevamento moderno. È quindi consigliabile allontanare il vitello nelle prime 1-2 ore dopo il parto e somministrargli manualmente un volume noto di colostro (Godden, 2008). Il protocollo attuato invece prevede l'allontanamento del vitello dalla madre al massimo 3 ore dopo il parto, asciugandolo e ponendolo in un ricovero precedentemente pulito con idropulitrice, disinfettato e vuoto da almeno 7 giorni. Quanto richiesto trova riscontro anche in letteratura (Barrington et al., 2002, McGuirk and Collins, 2004), tuttavia è da sottolineare la difficoltà di applicare tale metodo a tutti i vitelli nati a qualsiasi ora del giorno o della notte, specialmente nelle strutture medio-piccole o con dipendenti.

I dati raccolti prima dell'attuazione del protocollo evidenziano che molti allevatori colostrano entro le prime 12 ore dalla nascita, in media i vitelli sono alimentati 8,3 ore dopo la nascita, tuttavia è da tenere in considerazione che i dati sono stati riferiti dai singoli allevatori, è quindi probabile che la media ottenuta sia sottostimata e che in realtà la colostratura normalmente avvenga ben più tardi.

Secondo il protocollo è prevista una somministrazione di almeno 2 litri di colostro entro le prime 4 ore di vita, garantendone una seconda entro le 12 ore e continuando per 2 giorni. In base ai dati raccolti è stato visto che la quantità fornita è molto variabile, da 1 a 4 litri, con una media di 2,4 litri per pasto suddivisi in 2 somministrazioni al giorno. Al momento della comunicazione delle richieste di colostratura secondo quanto previsto dal protocollo, ogni allevatore ha dimostrato di essere consapevole di dover colostrare il vitello repentinamente, ma ha anche sottolineato le difficoltà di poter eseguire tale operazione. Davis & Drackley sostengono che al primo pasto il vitello debba ingerire almeno 100g di IgG (Davis and Drackley, 1998), per poter fornire la corretta quantità di IgG diventa però indispensabile calcolare l'esatta concentrazione di IgG nel colostro della madre, potendo così calcolare la quantità di alimento da fornire. Tale operazione però, in condizioni di campo, risulta impraticabile. Altri autori hanno calcolato che solamente il 36% di bovine di razza frisona produce un colostro con concentrazioni di IgG tali da poter fornire al vitello 100g/l di IgG in 2 litri, il restante 64% garantirebbe la stessa quantità di IgG in 4 litri di colostro (Besser et al., 1991). In un altro studio la concentrazione media di IgG sieriche nei vitelli alimentati con 4 litri di ottimo colostro alla nascita seguita da 2 litri di ottimo colostro alla 12^a ora di vita, era di 3110 mg/dl; al contrario la concentrazione media di IgG sieriche in vitelli alimentati con 2 litri di ottimo colostro alla nascita, seguiti da altri 2 litri di ottimo colostro alla 12^a ora, era di 2350 mg/dl (Morin et al., 1997). Dai dati raccolti emerge che molti allevatori sottolineano la difficoltà di fornire più di 2 litri di colostro per pasto e solo in un caso si ricorre sistematicamente all'utilizzo della

sonda, garantendo così 4 litri di colostro per animale per pasto. La scelta di standardizzare la somministrazione di colostro a 2 litri entro le prime 4 ore deriva dal fatto che Morin e colleghi hanno dimostrato che tale tecnica di somministrazione garantisce al vitello di raggiungere livelli di IgG sieriche pari a 2350 mg/dl a 24h di vita (Morin et al., 1997), tale valore è da considerarsi ottimo e spesso risulta un traguardo da raggiungere (National Animal Health Monitoring System, 1996).

Nel protocollo è richiesto inoltre di pulire e disinfettare accuratamente gli strumenti dopo ogni singolo utilizzo, questo perché questi risultano tra le principali fonti di contaminazioni di batteri coliformi, possibili agenti di diarrea neonatale (Barrington et al., 2002).

Per quanto riguarda la stabulazione dei vitelli in seguito al parto si è visto che la scelta delle gabbiette è preferita dal 62,5% degli allevatori, il restante 22,5% e 15,0% utilizzano rispettivamente i box multipli e gli igloo. Nel protocollo non è stato scelto di richiedere all'allevatore l'adozione di particolari strutture, tantomeno sono state scartate stalle per la presenza di strutture non idonee. Tutte e tre le tipologie riscontrate risultano infatti accettabili, purché gestite nel modo corretto. Il protocollo infatti richiedeva di pulire e disinfettare i ricoveri al cambio di ogni vitello in modo da garantire un ambiente pulito all'animale successivo, diminuendo il rischio d'infezione.

Dal punto di vista eziologico è stato visto che i patogeni maggiormente coinvolti nelle diarree neonatali sono i Rotavirus ed i Coronavirus, rispettivamente presenti nel 47,5% e 58,0% dei casi. Tali patogeni sono stati riscontrati sia come agenti singoli sia in concomitanza ad altri agenti patogeni. Cryptosporidi ed E. coli F5 sono risultati meno frequenti, sono infatti comparsi rispettivamente nel 25,0% e 10,5% dei casi, anch'essi sia singolarmente o in varie associazioni. In un'azienda non è stato isolato nessuno dei 4 agenti eziologici causa di diarrea, questo può essere dovuto alla problemi legati al kit diagnostico o alla possibile presenza di altri patogeni enterici. La concentrazione media di IgG nel siero dei vitelli aveva già valori buoni (pari a 1120mg/dl) prima

dell'inizio della prova. Dopo l'introduzione del protocollo, quindi della vaccinazione e della prevenzione con alofuginone, infatti, non è stato osservato nessun miglioramento clinico.

Data la scarsa numerosità del campione e data la polifattorialità della diarrea neonatale, non è stato possibile verificare un correlazione tra mortalità e/o gravità delle forme diarroiche e presenza di infezioni da un singolo agente o da più agenti eziologici.

I dati relativi alla colostratura dei vitelli prima dell'applicazione del protocollo evidenziano la presenza di 90 vitelli su 200 (45,0%) in condizioni di FPT (IgG sieriche <1000mg/dl) e 67 vitelli su 200 (33,5%) con valori anticorpali limite (IgG sieriche =1000mg/dl), per un totale di 157 vitelli (78,5%). In seguito all'applicazione del protocollo, quindi fornendo il colostro nel modo corretto, tali dati sono nettamente migliorati, infatti i vitelli in FPT sono diminuiti da 90 a 21 (10,5%), quelli a valori limite sono scesi a 53 (26,5%), mentre quelli correttamente colostrati sono aumentati da 43 (21,5%) a 126 (63%). In linea teorica ci si potrebbe aspettare un miglioramento assoluto della colostratura, purtroppo però non è stato possibile verificare (non essendo presenti) le operazioni in ogni azienda e su ogni singolo vitello. Inoltre, visti i dati relativi alle IgG sieriche dei vitelli prima dell'introduzione della prova, quelli relativi alle operazioni di colostratura, comunicati dagli allevatori all'inizio della prova potrebbero non rispecchiare la realtà. È da tenere presente che non solo le operazioni di colostratura possono influire sulla concentrazione di IgG nel sangue del vitello, bensì anche la qualità del colostro è importante; il numero di parti di una bovina, l'alimentazione degli animali in asciutta, la razza ed eventuali problemi metabolici della madre possono contribuire all'abbassamento della qualità del colostro (Weaver et al., 2000). Il motivo per cui molti vitelli abbiano gli anticorpi IgG sierici bassi (<1000 mg/dl) non è tanto dovuto alla scarsa qualità del colostro, quanto alle errate modalità della sua somministrazione. I valori di IgG contenuti nel colostro di bovine primipare e secondipare sono infatti risultati abbondantemente sopra la media, il 67% delle pluripare ed il 19,5% delle primipare ha valori di IgG nel colostro > a 60g/l. In uno

studio del 1999, Jardon e colleghi hanno rilevato una concentrazione media di IgG di 25 g/l nelle primipare, 37 g/l nelle secondipare e 47 g/l nelle terzipare (Jardon et al., 1999), questi dati non combaciano con quanto riscontrato nella presente prova in quanto i valori di IgG ottenuti mediante l'utilizzo del densimetro risultano più elevati rispetto a quelli ottenuti nel lavoro del 1999. La vaccinazione introdotta con il protocollo può aver contribuito solo in piccola parte al miglioramento delle concentrazioni sieriche di IgG nei vitelli colostrati dopo l'utilizzo del protocollo, questo perché la vaccinazione permette di stimolare la produzione di anticorpi specifici diretti solamente verso 3 patogeni. Probabilmente il motivo di tale discrepanza è proprio legato alle differenti tecniche di misurazione delle IgG, il densimetro infatti rischia di sovrastimare la presenza di IgG, tuttavia è stato scelto di utilizzare tale strumento vista la sua larga diffusione nelle aziende e la praticità di utilizzo (Bielmann et al., 2010; Mechor et al., 1992).

Per quanto riguarda la sintomatologia clinica, in seguito all'utilizzo del protocollo si è assistito ad una notevole diminuzione dei casi di diarrea, sono infatti drasticamente diminuite le forme di diarrea moderata e grave. Tuttavia permane un 18% di animali con diarrea lieve, questo probabilmente è dovuto al fatto che la patologia enterica è su base multifattoriale e che risulta molto difficile tenere sotto controllo tutti i fattori predisponenti. La mortalità media era già bassa all'inizio della prova, in letteratura infatti è riportato che normalmente si possono perdere dall'uno e mezzo all'otto per cento dei vitelli per cause di enterite neonatale (Lorino et al., 2005), nel presente studio la mortalità è passata dal 4,59% al 2,76%, rispettivamente prima e dopo l'introduzione del protocollo, evidenziando comunque un netto miglioramento. È da sottolineare che in alcune aziende la mortalità è arrivata a percentuali pari al 26%, mantenendosi a livelli elevati (13%) anche dopo l'utilizzo del protocollo.

La vaccinazione è stata introdotta per fornire un'adeguata quantità di anticorpi specifici per Rotavirus, Coronavirus ed E. coli F5, mentre la profilassi con Halofuginone è stata utilizzata per

prevenire forme diarroiche date da *Cryptosporidium parvum*. In letteratura sono disponibili molti studi che dimostrano l'efficacia degli interventi vaccinali come profilassi per il controllo delle diarree neonatali, i prodotti immunizzanti testati sono sia vivi attenuati, sia inattivati; la maggior parte dei vaccini è destinata alle madri, tuttavia esistono anche prodotti indirizzati direttamente al vitello, sfortunatamente risultano poco praticabili in azienda in quanto la loro somministrazione è prevista prima dell'assunzione del colostro (De Lee et al., 1980; Gonzalez et al., 2010; Parreño et al., 2004).

Conclusioni

In base ai risultati ottenuti da questo studio si può concludere che i principali patogeni coinvolti nella diarrea neonatale del vitello sono i Rotavirus ed i Coronavirus, meno frequentemente sono stati isolati il *Cryptosporidium parvum* e/o il *E. coli* F5. Tali patogeni possono essere presenti nelle feci degli animali adulti e permangono per molto tempo negli ambienti contaminati da feci infette; risulta quindi fondamentale l'applicazione di metodiche standardizzate che garantiscano condizioni igieniche ottimali nell'ultima parte della gestazione, al parto e durante la crescita dei vitelli. Da questo è emerso che l'aspetto più importante e probabilmente più sottovalutato, è quello della corretta e tempestiva somministrazione del colostro al vitello; un intervento vaccinale mirato contro i principali patogeni enterici (Rotavirus, Coronavirus ed *E. coli* F5) ed una prevenzione a base di alofuginone, possono risultare utili nella prevenzione della diarrea neonatale ma non possono essere considerati l'unica soluzione da adottare.

Bibliografia

1. Archambault D., Morin G., Elazhary Y., Roy R.S., Joncas J.H. (1988). Immune response of pregnant heifers and cows to bovine rotavirus inoculation and passive protection to rotavirus infection in newborn calves fed colostral antibodies or colostral lymphocytes. *The American Journal of Veterinary Research*. 49(7):1084-1091.
2. Arnaudo F. (2009). La diarrea neonatale del vitello. *Large Animal Review*, Supplemento n. 4. 5-50.
3. Ball J.M., Peng T., Zeng C.Q.Y., Morris A.P., Estes M.K., Mary K. (1996). Age dependent diarrhea induced by a Rotavirus non-struttural Glycoprotein. *Science*. 272(5258):101-104.
4. Banks K.L., McGuire T.C. (1989). Neonatal Immunology. In Halliwell REW, Gorman NT (eds): *Veterinary Clinical Immunology*. Philadelphia, WB Saunders. 193-204.
5. Barret, Kaper T.J., Jerse A.E., Wachsmuth J.K. (1992). Virulence factor in shiga-like toxin-producing *Escherichia coli* isolated from humans and cattle. *Journal of Infectious Diseases*. 165:979-980.
6. Barrington G.M. and Parish S.M. (2001). Bovine neonatal immunology. *The Veterinary Clinics of North America and Food Animal Practice*. 17:463-476.
7. Barrington G.M., Besser T.E., Gay C.C., Davis W.C., Reeves J.J., McFadden T.B. (1997). Effect of prolactin on in vitro expression of the bovine mammary immunoglobulin G1 receptor. *Journal of Dairy Science*. 80:94-100.

8. Barrington G.M., Besser T.E., Gay C.C., Davis W.C., Reeves J.J., McFadden T.B. (1999). Regulation of the immunoglobulin G1 receptor: effect of prolactin on in vivo expression of the bovine mammary immunoglobulin G1 receptor. *Journal of Endocrinology* 163:25-31.
9. Barrington G.M., Gay J.M., Evermann F. (2002). Biosecurity for neonatal gastrointestinal diseases. *The Veterinary Clinics Food Animal Practice*. 18:7-34.
10. Besser T.E., Gay C.C. (1985). Septicemic colibacillosis and failure of passive transfer of colostral immunoglobulins in calves. *The veterinary Clinics of North America and Food Animal Practice*. 1:445-459.
11. Besser T.E., Gay C.C., McGuire T.C., Evermann J.F. (1988-1). Passive immunity to bovine rotavirus infection associated with transfer of serum antibody into intestinal lumen. *Journal of Virology*. 62(7):2238-2242.
12. Besser T.E., Gay C.C., Pritchett L. (1991). Comparison of three methods of feeding colostrum to dairy calves. *Journal of American Veterinary Medical Association*. 198:419-422.
13. Besser T.E., McGuire T.C., Gay C.C., Pritchett L.C. (1988-2). Transfer of functional immunoglobulin G (IgG) antibody into the gastrointestinal tract accounts for IgG clearance in calves. *Journal of Virology*. 62(7):2238-2242.
14. Besser T.E., Szenci O., Gay C.C. (1990). Decrease colostral immunoglobulin absorption in calves with postnatal respiratory acidosis. *Journal of the American veterinary Medical Association*. 196:1239-1443.
15. Biemann V., Gillan J., Perkins N.R., Skidmor A.L., Goddens S., Leslie K.E. (2010). An evaluation of Brix refractometry instruments for measurement of colostrum quality in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*. 93:3713:3721.

16. Brambell F.W.R. (1966). The transmission of immunity from mother to young and the catabolism of immunoglobulins. *Lancet*. 2(7473):1087-1093.
17. Brandon M.R., Watson D.L., Lascelles A.K. (1971). The mechanism of transfer of immunoglobulin into mammary secretion of cows. *The Australian Journal of Experimental Biology Medical Science*. 49:613.
18. Bukhari Z., Smith H.V. (1997). *Cryptosporidium parvum*: oocyst excretion and viability patterns in experimentally infected lambs. *Epidemiology and Infection*. 119:105-108.
19. Buonavoglia C., Compagnucci M. (1998). Trattato di malattie infettive degli animali. Ruffo G. Scatozza F. 2[^] ed. UTET. 115-119.
20. Butler J.E. (1974). Immunoglobulin of the mammary secretions. In Larson B.L. and Smith V.R. Ed. Lactation: a comprehensive treatise, Vol III. New York Academic Press, pp. 217.
21. Butler J.E. (1983). Bovine Immunoglobulins an Augmented review. *Veterinary immunology and Immunopathology*. 4:43-152.
22. Clark M.A. (1993). Bovine coronavirus. *British Veterinary Journal*. 149(1):51-70.
23. Constable P. (2009). Treatment of calf diarrhea: antimicrobial and ancillary treatments. *Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice*. 25:101-120.
24. Crouch C.F. (1985). Vaccination against enteric rota and coronaviruses in cattle and pigs: enhancement of lactogenic immunity. *Vaccine*. 5(3):284-291.
25. Crouch C.F., Acres S.D. (1984). Prevalence of rotavirus and coronavirus antigens in the faeces of normal cows. *Canadian Journal of Comparative Medicine*. 19:340-342.

26. Crouch C.F., Oliver S., Hearle D.C., Buckley A., Chapman A.J., Francis M.J. (2001). Lactogenic immunity following vaccination of cattle with bovine coronavirus. *Vaccine*. 19:189-196.
27. Dauvergne M., Laporte J., Reynaud G., Soulebot J.P., Brun A., Espinasse J. (1983). Vaccination of dams with a combined rotavirus, coronavirus vaccine to protect newborn calves against diarrhea. In: IVth International Symposium, Neonatal Diarrhea, VIDO, Saskatchewan, Canada. 424-432.
28. Davis C.L., Drackley J.K. (1998). In: the development, nutrition, and management of the young calf. 1st edition. Ames (IA): Iowa State University Press. 179-206.
29. De Leeuw P.W., Ellens D.J., Talmon P., Zimmer G.N., Kommerij R. (1980). Rotavirus infections in calves: efficacy of oral vaccination in endemically infected herds.
30. De Verdier K. (1999). Neonatal calf diarrhoea with special reference to Rotavirus infections: significance, epidemiology, epidemiology and aspects of prevention. AGRIS record.
31. Dean-Nystrom E.A., Bosworth B.T., Cry W.C.J.R., Moon H.V. (1997). Pathogenicity of *Escherichia coli* O157 H7 in the intestines of neonatal calves. *Infection and Immunity*. 65:182-184.
32. Devery J.E., Davis C.L., Larson B.L. (1979). Endogenous production of immunoglobulin IgG1 in newborn calves. *Journal of Dairy Science*. 62:1814-1818.
33. Dixon F.J., Weigle W.O., Vazquez J.J. (1961). Metabolism and mammary secretion of serum proteins in the cow. *Laboratory investigation*. 10:216-237.
34. Doll K. (2004). Diarrea neonatale. In: "medicina interna e chirurgia del bovino". Dirksen G., Hans-Dieter Grunter, matthaeus Stober. Ed. Le Point Veterinaire. Ed. Italiana a cusa di Giovanni Sali. 561-572.

35. Drewry J.J., Quigley J.D., Geiser D.R., Welborn M.G. (1999). Effect of high arterial carbon dioxide tension on efficacy of immunoglobulin G absorption in calves. *The American Journal of Veterinary Research*. 60(5):609-614.
36. Estes M.K., Cohen J. (1989). Rotavirus gene structure and function. *Microbiological Review*. 53:410-449.
37. Furnier R., Muriel N. (2007). Prevalenza degli agenti di diarrea nel giovane vitello. *Summa*. N.8 ottobre.
38. Gay C.C. (1983). Failure of passive transfer of colostral immunoglobulins and neonatal disease in calves: a review. Proceedings of the 4th international symposium on neonatal diarrhoea, veterinary infectious disease organization (VIDO), Saskatoon, Saskatchewan, Canada. 346-364.
39. Geurden T., Claerebout E., Vercruyse J., Berkvens D. (2004). Estimation of diagnostic test characteristics and prevalence of *Giardia duodenalis* in dairy calves in Belgium using a Bayesian approach. *International Journal of Parasitology*. 34(10):1121-1127
40. Godden A. (2008). Colostrum Management for Dairy Calves. *Veterinary Clinics. Food Animal Practice*. 24:19-39.
41. Gonzalez D.D., Mozgovej M.V., Bellido D., Rodriguez D.V., Fernandez F.M., Wigdorovits A., Parreño V.G., Dus Santos M.J. (2010). Evaluation of a bovine rotavirus VP6 vaccine efficacy in the calf model of infection and disease. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 137(1-2):155-160.
42. Selman I.E., McEwan A.D., Fisher E.W. (1971). Studies on dairy calves allowed to suckle their dams at fixed times postpartum. *Research in Veterinary Science*. 12:1-6.

43. Graaf D.C., Vanopdenbosch E., Ortega-Mora L.M., Abbassi H., Peeters J.E. (1999). A review of the importance of cryptosporidiosis in farm animals. *International Journal of Parasitology*. 29:1269-1287.
44. Griffin P.M. (1995). *Escherichia coli* O157 H7 and other enterohaemorrhagic *Escherichia coli*. In: infection of the gastrointestinal tract. Blaser M.J., Smith P.D., Ravdin J.I., Grenberg H.B., Guerrant R.L. ed. Raven Press, New York, NY, 739-761.
45. Grinberg A., Markovics A., Galindez J., Lopez-Villalobos N., Kosak A., Tranquillo V.M. (2002). Controlling the onset of natural cryptosporidiosis in calves with paramomycin sulphate. *The Veterinary Record*. 151:3223-3227.
46. Guidry A.J., Paape M.J., Pearson R.E. (1980). Quarter milk variation in immunoglobulins and ability to support phagocytosis. *Journal of Dairy Science*. 63:611.
47. Hartmann P.E. (1973). Changes in the composition and yield of the mammary secretion of cows during the initiation of lactation. *Journal of Endocrinology*. 59:231.
48. Holland R.E., Boyle S.M. Herdt T.H., Grimes S.D., Walker P.J.R.D. (1992). Malabsorption of vitamin A in preruminating calves infected with *Cryptosporidium parvum*. *American Journal of Veterinary Research*. 3:1947-1952.
49. Holmes I.H. (1996). Development of Rotavirus molecular epidemiology: electropherotyping. *Archive of Virology suppl*. 12:87-91.
50. Husband A.J., Brandon M.R., Lascelles A.K. (1972). Absorption and endogenous production of immunoglobulin in calves. *The Australian Journal of Experimental Biology and Medical Science*. 50:491-498.

51. Jayappa H., Davis R., Dierks L., Sweeney D., Wasmoen T. (2008). Demonstration of passive protection in neonatal calves against colibacillosis following immunization of pregnant heifers at 3 month of gestation. *Veterinary Therapeutics*. 9(4):283-289.
52. Jin-an H., Nagesha H.S., Snodgrass D.R., Holmes I.H., Ian H. (1992). Molecular and serological analyses of two bovine rotaviruses (B-11 and B-60) causing calf scours in Australia. *Journal of Clinical Microbiology*. Jan:85-92.
53. Kang S.J., Ryu S.J., Chae J.S., Eo S.K., Woo G.J., Lee J.H. (2004). Occurrence and characteristics of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157 in calves associated with diarrhoea. *Veterinary Microbiology*. 98:323-328.
54. Kapikian A.Z., Chanock R.M. (1996). Rotaviruses. In: Fields B.N., Knipe D.M., Howley P.M., Chanock R.M., Melnick J.L., Monath T.P. et al. editors. *Virology*. 3d ed. Philadelphia: Lippincott-Raven. 1657-708.
55. Klein P., Kleinová T., Volek Z., Simunek J. (2008). Effect of *Cryptosporidium parvum* infection on the absorptive capacity and paracellular permeability of the small intestine in neonatal calves. *Veterinary Parasitology*. 152(1-2):53-59.
56. Kohara J., Hirai T., Mori K., Ishizaki H., Tsunemitsu H. (1997). Enhancement of passive immunity with maternal vaccine against newborn calf diarrhea. *The Journal of Veterinary Medical Science*. 59:1023-1025.
57. Larson B.L., Leary H.L., Devery J.E. (1980). Immunoglobulin production and transport by the mammary gland. *Journal of Dairy Science*. 53:665-671.
58. Le Jan C. (1996). Cellular components of mammary secretions and neonatal immunity: a review. *Veterinary Research*. 27:403-417.

59. Lee J.H., Hur J., Stein B.D. (2008). Occurrence and characteristics of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O26 and O111 in calves associated with diarrhoea. *The Veterinary Journal*. 176:205-209.
60. Lefay D., Naciri M., Poirier P., Chermette R. (2001). Efficacy of halofuginone lactate in the prevention of cryptosporidiosis in suckling calves. *The Veterinary Record*. 27-108-112.
61. Lopez J.W., Allen S.D., Mitchell J., Quinn M. (1988). Rotavirus and cryptosporidium shedding in dairy calf feces and its relationship to colostral immune transfer. *Journal of Dairy Science*. 71:1288.
62. Lorenzo M.J., Ares-Mazàs E., Villacorta M.M.I. (1993). Detection of oocyst and IgG antibodies to *Cryptosporidium parvum* in asymptomatic adult cattle. *Veterinary Parasitology*. 47(1-2):9-15.
63. Lorino T.T., Daudin J.J., Robin S., Sanaa M. (2005). Factors associated with time to neonatal diarrhoea in French beef calves. *Preventive Veterinary Medicine*. 68:91-102.
64. Lu C.P., Yao H.C., Eichhorn W. (1991). Coronavirus as an agent of neonatal calf diarrhoea on a Chinese dairy cattle farm. *Zentralbl Veterinarmed B*. 38(6):473-476.
65. McGuirk S.M., Collins M. (2004). Managing the production, storage, and delivery of colostrum. *The Veterinary Clinics Food Animal Practice*. 20:593-603.
66. Mebus C.A., Stair E.L., Rhodes M.B., Twiehaus M.J. (1973). Pathology of neonatal calf diarrhoea induced by corona-like virus. *Veterinary Pathology*. 10:45-64.
67. Mebus C.A., Stair E.L., Underdahl N.R., Twiehaus M.J. (1971). Pathology of neonatal calf diarrhoea induced by reo-like virus. *Veterinary Pathology*. 8:490-505.

-
68. Mechor G. D., Gröhn Y.T., McDowell L.R., Van Saun R.J. (1992). Specific gravity of bovine colostrum immunoglobulins as affected by temperature and colostrum components. *Journal of Dairy Science*. 75:3131–3135.
 69. Moon H.W., McClurkin A.W., Isaacson R.E., Pohlenz J., Skartedf S.M., Gillette K.G., Baetz A.L. (1978). Pathogenic relationship of rotavirus, *Escherichia coli*, and other agents in mixed infections in calves. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 173:577-583.
 70. Morin D.E., McCoy G.C., Hurley W.L. (1997). Effects of quality, quantity and timing of colostrum feeding and addition of a dried colostrum supplement on immunoglobulin G1 absorption in Holstein bull calves. *Journal of Dairy Science*. 80:747-753.
 71. Mostl K., Burkl F. (1988). Incidence of diarrhoea and of rotavirus- and coronavirus-shedding in calves, whose dams had been vaccinated with an experimental oil-adjuvanted vaccine containing bovine rotavirus and bovine coronavirus. *Journal of Veterinary Medicine B*. 35:186-196.
 72. Muller L.D., Ellinger D.K. (1981). Colostral immunoglobulin concentration among breeds of dairy cattle. *Journal of Dairy Science*. 64:1727-1730.
 73. National Animal Health Monitoring System. Dairy (1996). National dairy health evaluation project. Dairy heifer morbidity, mortality, and health management focusing on preweaned heifers. Ft. Collins (CO): USDA-APHIS Veterinary Services.
 74. Navarre C.B., Belknap E.B., Rowe S.E. (2000). Differentiation of gastrointestinal disease of calves. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*. 16(1):37-57.

75. O'Donoghue P.J. (1995). Cryptosporidium and cryptosporidiosis in man and animals. *International Journal of Parasitology*. 25:139-195.
76. O'Handley R.M., Cockwill C., McAllister T.A., Jelinski M., Morck D.W., Olson M.E. (1999). Duration of naturally acquired giardiasis and cryptosporidiosis in dairy calves and their association with diarrhea. *Journal of the Veterinary Medical Association*. 214(3):391-396.
77. O'Handley R.M., Olson M.E., McAllister T.A., Morck D.W., Jelinski M., Royan G., Cheng K.J. (1997). Efficacy of fenbendazole for treatment of giardiasis in calves. *American Journal of Veterinary Research*. 58:384-388.
78. Oda S., Satoh H., Sugawara T., Matsunga N., Kuhara T., Katoh K., Shoji Y., Nihei A., Ohta M., Sasaki Y. (1989). Insulin like growth factor-I, GH, insulin and glucagon concentrations in bovine colostrum and in plasma of dairy cows and neonatal calves around parturition. *Comparative Biochemistry and Physiology, a Comparative Physiology*. 94(4):805-808.
79. Olson M.E., Guselle N.J., O'Handley R.M., Swift M.L., McAllister T.A., Jelinski M.D., Morck D.W. (1997a) *Giardia* and *Cryptosporidium* in dairy calves in British Columbia. *Canadian Veterinary Journal*. 38:703-706.
80. Olson M.E., Thorlakson C.L., Deselliers L., Morck D.W., McAllister T.A. (1997b). *Giardia* and *Cryptosporidium* in Canadian farm animals. *Veterinary Parasitology*. 68:375-381.
81. Park Y.H., Fox L.K., Hamilton M.J., Davis W.C. (1992). Bovine mononuclear leukocyte subpopulations in peripheral blood and mammary gland secretions during lactation. *Journal of Dairy science*. 75:998-1006.

82. Parmely M.J., Beer A.E. (1977). Colostral cell-mediate immunity and the concept of common immune system. *Journal of Dairy Science*. 60:655-665.
83. Parreño V., Béjar C., Vagnozzi A., Barrandeguy M., Costantin V., Craig M.I., Yuan L., Hodgins D., Saif L., Fernández F. (2004). Modulation by colostrum-acquired maternal antibodies of systemic and mucosal antibody response to rotavirus in calves experimentally challenged with bovine rotavirus. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 100:7-24.
84. Peters J.E., Villacorta I., Naciri M., Vanopdenbosch E. (1993). Specific serum and local antibody response against *Cryptosporidium parvum* during medication of calves with halofuginone lactate. *Infection and Immunity*. 61:40-44.
85. Politis I., McBride B.W., Burton J.H., Zhao X., Turner J.D. (1991). Secretion of interleukin-1 by bovine milk macrophages. *American Journal of Veterinary Research*. 52(6):858-862.
86. Quigley J.D., Drewry J.J., Ivey S.J. (1997). Effect of lasalocid milk replacer or calf starter on health and performance of calf challenged with *Eimeria* species. *Journal of Dairy Science*. 80:2972-2976.
87. Reidel-Caspari G., Schmidt F.W. (1991). The influence of colostrum leukocytes on the immune system of the neonatal calf, II. Effects on passive and active immunization. *DTW Dtsch Teirarztl Wochenschr*. 98:165-204.
88. Rewinski M.J. Yang T.J. (1994). Lactation stage-dependent changes in levels of tumor necrosis factor / cachectin in milk. *American Journal of Reproductive Immunology*. 31:170-176.

-
89. Rodak L., Babiuk L.A., Acres S.D. (1982). Radioimmunological (RIA) and enzymimmunological (ELISA) detection of coronavirus antibodies in bovine serum and lacteal secretion. *Journal of Clinical Microbiology*. 16:34-40.
 90. Ruffo G. (1998). Fam. Enterobatteriacee in “trattato di malattie infettive degli animali”. Ruffo G., Scatozza F. 2[^] ed. ed UTET 115-134.
 91. Sandhu K.S., Gyles C.L. (2002). Pathogenic shiga-like toxin-producing *Escherichia coli* in the intestine of calves. *Canadian Journal of Veterinary Research*. 66:65-72.
 92. Sasaki M., Davis C.L., Larson B.L. (1976). Production and turnover of IgG1 and IgG2 immunoglobulins in the bovine around parturition. *Journal of Dairy Science*. 59:2046-2055.
 93. Schmidt H., Beutin L., Karch H. (1995). Molecular analisys of the plasmid-coded hemolysin of *Escherichia coli* O157:H7 strain EDL 933. *Infection and Immunity*. 63:1055-1061.
 94. Scott C.A. Smith H.V., Mtambo M.M.A., Gibbs H.A. (1995). An epidemiological study of *Cryptosporidium parvum* in two herds of adult beef cattle. *Veterinary Parasitology*. 57:277-288.
 95. Senogles D.R., Muscoplat C.C., Paul P.S., Johnson D.W. (1978). Ontogeny of circulating B lymphocytes in neonatal calves. *Research Veterinary Science*. 25:34-36.
 96. Smith B.P. (1991). The role of management and use of vaccine in the control of acute undifferentiated diarrhea of newborn calves. *Canadian Veterinary Journal*. 32:155-159.
 97. Smith B.P., Acres S.D. (1980). The prevention and control of epidemics and acute undifferentiated diarrhea of beef calves in western Canada. *Canadian Veterinary Journal*. 21:243-249.

98. Smith B.P., Blood D.C., Gay C.C. (1996). *Veterinary Medicine. A textbook of the disease of cattle, sheep, pigs, goats and horses.* 8th ed. Bailliere Tindall. Cap. 3: Disease of the newborn, 107-140.
99. Smith K.L., Schanbacher F.L. (1973). Hormone induced lactation in the bovine. 1. lactational performance following injection of 17 β -oestradiol and progesterone. *Journal of Dairy Science.* 56:738-743.
100. Snodgrass D.R., Fitzgerald T., Campbell I., Scott F.M., Browing G.F., Miller D.L., Herring A.J., Greenberg H.B. (1990). Rotavirus serotypes 6 and 10 predominate in cattle. *Journal of Clinical Microbiology.* 28(3):504-507.
101. Sordillo L.M., Redmond M.J., Campos M., Warren L., Babiuk L.A. (1991). Cytokine activity in bovine mammary gland secretions during the periparturient period. *Canadian Journal of Veterinary Research.* 55(3):298-301.
102. Staley T.E., Corles C.D., Bush L.J., Jones E.W. (1972). The ultrastructure of neonatal calf intestine and absorption of heterologous protein. *The Anatomical Record.* 172(3):559-579.
103. Stephanek J., Salajka E., Zuffa A., Mensik J., Franz J. (1987). New polyvalent vaccine against intestinal infections in newborn calves. *Veterinari-Medicina.* 32:65-80.
104. Stone S.S., Gitler M. (1969). The validity of the sodium sulfite test for detecting immunoglobulin in calf serum. *British Veterinary Journal.* 125:68-72.
105. Stott G.H., Marx D.B., Menefee B.E. and Nightengale G.T. (1979). Colostral immunoglobulin transfer in calves II. The rate of absorption. *Journal of Dairy Science.* 62:1766-1773.

106. Stott G.H., Marx D.B., Menefee B.E. and Nightengale G.T. (1979). Colostral immunoglobulin transfer in calves III. The amount of absorption. *Journal of Dairy Science*. 62:1902-1907.
107. Tamura K., Sakazari R., Murase M., Kosako Y. (1996). Serotyping and categorization of *Escherichia coli* strains isolated between 1985 and 1992 from diarrhoeal disease in Asia. *Journal of Medical Microbiology*. 45:353-358.
108. Tizard E.R. (2009). *Veterinary Immunology an introduction*. 8th edition, edited by Saunders Elsevier, St. Louis, Missouri.
109. Tokuyama Y., Tokuyama H. (1993). Purification and identification of TGF β 2 related growth factor from bovine colostrum. *Journal of Dairy Research*. 60:99-109.
110. Tyler H., Ramsey H. (1991). Hypoxia in neonatal calves: effect on intestinal transport of immunoglobulins. *Journal of Dairy Science*. 74:1953-1956.
111. Tyler J.W., Hancock D.D., Parish S.M., Douglas E.R., Besser T.E., Sanders S.G., Wilson L.K. (1996). Evaluation of 3 Assays for Failure of Passive Transfer in Calves. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 10(5):304-307.
112. Weaver D.M., Tyler J.W., VanMetre D.C., Hostetler D.E. Barrington G.M. (2000). Passive transfer of colostral immunoglobulin in calves. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 14:569-577.
113. Wieda J., Bengelsdroff H.J., Bernhardt D., Hungerer K.D. (1987). Antibody levels in milk of vaccinated and unvaccinated cows against organisms of neonatal diarrhoea. *Journal of Veterinary Medicine B*. 34:495-503.
114. Winger K., Gay C.C., Besser T.E. (1995). Immunoglobulin G1 transfer into induced mammary secretions: the effect of dexamethasone. *Journal of Dairy Science*. 78:1306-1309.

115. Wyatt C.R., Madruga C., Cluff C., Parish S., Hamilton M.J., Goff W., Davis W.C. (1994). Differential distribution of $\gamma\delta$ T-cell receptor lymphocyte subpopulations in blood and spleen of young and adult cattle.
116. Yvorè P., Naciri M. (1989). Halofuginone lactate in the treatment of cryptosporidiosis in ruminant. In: *Coccidia and Intestinal Coccidiomorphs. Vth International Coccidiosis conference. Tours (France) October 17-20, 1989. Les Colloques de l'IRA* 49, 475-478.