



UNIVERSITÀ DI PARMA

DIPARTIMENTO DI SCIENZE MEDICO-VETERINARIE

Corso di Laurea Magistrale a ciclo unico in Medicina Veterinaria

**METABOLISMO MINERALE NEL PERIPARTO DI BOVINE DA
LATTE: MONITORAGGIO DEL PROFILO MINERALE DELLE
URINE E VALUTAZIONE DEL RISCHIO IPOCALCEMICO**

*Mineral metabolism in periparturient dairy cows: urine mineral profile
monitoring and hypocalcemic risk assesment*

Relatore:

Chiar.mo Prof. Federico RIGHI

Correlatore:

Dott. Paolo COLTURATO

Laureando:

Andrea VECCHI

ANNO ACCADEMICO 2021-2022

INDICE

ABSTRACT	4
INTRODUZIONE	5
1. CAPITOLO PRIMO: IL RUOLO DEI MACROMINERALI NELL'ALLEVAMENTO DI BOVINE DA LATTE	7
1.1. ASPETTI GENERALI.....	7
1.2. TABELLA RIASSUNTIVA (CALCIO, FOSFORO, MAGNESIO, POTASSIO, SODIO, CLORO E ZOLFO).....	9
1.3. PRINCIPALI INTERAZIONI TRA I MACROMINERALI.....	14
1.3.1. <i>Ca/P/Mg</i>	14
1.3.2. <i>K/Ca/Mg</i>	15
1.3.3. <i>Na/K e la pompa Na-K-ATPasi</i>	16
2. CAPITOLO SECONDO: LA DISPONIBILITA' DEI MINERALI NELLA DIETA	17
2.1. LA NUTRIZIONE MINERALE.....	17
2.2. CENNI CIRCA L'ASSORBIMENTO MINERALE A LIVELLO ENTERICO.....	18
2.3. TERMINOLOGIA.....	23
2.2.1. <i>Assorbibilità</i>	23
2.2.2. <i>(Bio)-Disponibilità</i>	24
2.4. NASEM 2021: NOVITÀ E AGGIORNAMENTI.....	26
3. CAPITOLO TERZO: OMEOSTASI MINERALE ED EQUILIBRIO ACIDO-BASE DELL'ORGANISMO	30
3.1. EQUILIBRIO ACIDO-BASE E PH.....	30
3.2. DCAD.....	36

4. CAPITOLO QUARTO: LA ORMONO-DIPENDENZA DEL METABOLISMO DEI MINERALI CON ACCENNI DI FISIOLOGIA RENALE	40
4.1. IL PARATORMONE (PTH)	40
4.2. L'ALDOSTERONE E IL RUOLO DEL RENE.....	44
5. CAPITOLO QUINTO: IL PERIPARTO E GLI SQUILIBRI MINERALI	48
5.1 ASPETTI GENERALI.....	48
5.2 LA “MILK FEVER”	52
5.3. L'IPOCALCEMIA ALLA BASE DELLE PATOLOGIE CORRELATE AGLI SQUILIBRI MINERALI NEL PERIPARTO	56
5.4. STRATEGIE DI CONTROLLO DELL'IPOCALCEMIA	64
6. CAPITOLO SESTO: CONTRIBUTO SPERIMENTALE	67
6.1. INTRODUZIONE.....	67
6.2. MATERIALI E METODI.....	69
6.2.1. <i>Allevamento, mandria e razionamento</i>	69
6.2.2. <i>Criteri di scelta e protocollo di campionamento</i>	74
6.2.3. <i>Metodo di prelievo e analisi</i>	77
6.3. RISULTATI E DISCUSSIONE	79
6.3.1. <i>Risultati analisi dell'unifeed: febbraio e giugno a confronto</i>	79
6.3.2. <i>Risultati analisi delle urine: febbraio e giugno a confronto</i>	82
CONCLUSIONI	90
BIBLIOGRAFIA	93

ABSTRACT

Milk fever and subclinical hypocalcemia are the most important macromineral disorders that affect transition dairy cows. It is important to realize that among all the production diseases experienced by dairy cattle, milk fever is related to the occurrence of many other problems, the timing of which would suggest that milk fever is at least one of the main predisposing factors that leads to an early-lactation cow disorder. Urinalysis is one of the most useful diagnostic tools to monitor animal health as it is rapid, cheap, and readily available in routine practice. It is an essential component in the diagnosis of urogenital diseases, and it is also a major tool in the diagnosis of metabolic diseases. Urinalysis allows to evaluate the state of mineralization of the cow, the risk of peripartum pathologies and its state of metabolic acidosis or alkalosis. The urine is therefore the result of the hormonal functioning put in place by the body and it offers a dynamic assessment of what it's really happening inside the cow organism. Specifically, the urine are used to evaluate the risk of peripartum pathologies, the effectiveness of mineral supplementation, to control the adequacy of the anion diet and to estimate whether the protocols applied in pre/post-partum are correct. In this case report, urinalysis was applied as a source of information on the state of mineralization of transition cows. It allowed to diagnose a mineral imbalance and, based on the results obtained, the mineral sources and supply were modified leading to a complete restoration of the cows mineral homeostasis.

INTRODUZIONE

Il periodo del periparto o “*di transizione*” (definito come l’intervallo compreso tra i 21 giorni precedenti il parto e i 21 giorni successivi) di una vacca da latte rappresenta il momento in cui la vacca passa da uno stato di quasi mantenimento nella tarda gestazione ad un rapido adattamento metabolico necessario per soddisfare le esigenze di produzione della lattazione. Questa fase di omeostasi richiede il coordinamento di numerosi ormoni e tessuti per mobilitare il grasso al fine di liberare energia, stabilizzare le fluttuazioni minerali come quella del calcio e adattare l’ambiente ruminale al cambiamento della dieta. Uno squilibrio minerale è anche la causa dei comuni disturbi della vacca nel post-partum precoce che derivano, fra l’altro, dalla compromissione della funzione immunitaria e dalla mancanza di disponibilità di metaboliti energetici.

Diverse strategie alimentari implementate attraverso la formulazione di razioni o l’integrazione di additivi per mangimi sono state impiegate per mitigare questi effetti negativi del periodo di transizione. Ad oggi l’attenzione rivolta al soddisfacimento dei fabbisogni di minerali della bovina da latte in transizione è molto alta nel mondo scientifico ma le variabili sono molte come le condizioni del singolo animale, delle razioni somministrate e dell’ambiente in cui vivono le vacche per cui i fabbisogni di riferimento sono di difficile stima. Ricercare un equilibrio macromineraie nella razione risulta fondamentale, soprattutto in questo periodo complesso per la bovina, evitando una condizione di ipocalcemia subclinica che predisporrà l’animale all’insorgere di altre patologie puerperali come dimostrato da diversi studi.

L'obiettivo di questo elaborato è quello di testare l'efficacia di specifiche modifiche dell'integrazione minerale per la risoluzione di squilibri macrominerali presenti nella bovina in transizione con lo scopo finale di evitare patologie puerperali che notoriamente impattano in maniera negativa la produttività. Lo studio e la verifica del raggiungimento dei valori ottimali si è svolto attraverso l'impiego dell'analisi delle urine, considerando le urine il risultato del funzionamento del sistema ormonale e del lavoro del rene al fine di valutare lo stato di mineralizzazione delle bovine in studio, valutandone in seguito il loro stato di acidosi/alcalosi.

1. CAPITOLO PRIMO: IL RUOLO DEI MACROMINERALI NELL'ALLEVAMENTO DI BOVINE DA LATTE

1.1. Aspetti Generali

I minerali sono elementi inorganici presenti in tutti gli organi e tessuti del corpo e le loro funzioni sono estremamente diverse: dalle funzioni strutturali in alcuni tessuti a un'ampia varietà di funzioni regolatorie in altri (NRC, 1980; Underwood, 1981; McDowell, 1992; Underwood and Suttle, 1999). Sono divisi in due grandi categorie: i macrominerali, espressi in grammi e presenti in concentrazioni maggiori nei foraggi, i quali rappresentano il fabbisogno maggiore e di conseguenza hanno impatti prioritari, e i microminerali (o *minerali in traccia*), espressi in milli/microgrammi.

In questa tesi non verranno presi in considerazione i microminerali.

I macrominerali sono sette: calcio (Ca), fosforo (P), magnesio (Mg), potassio (K), sodio (Na), cloro (Cl) e zolfo (S). Questi sono elementi nutritivi essenziali per l'organismo: svolgono dapprima un ruolo chiave nella regolazione degli equilibri acido-base, nel bilancio elettrolitico e nell'omeostasi cellulare e sono coinvolti nella trasmissione nervosa e nel mantenimento del potenziale elettrico di membrana. Hanno inoltre un ruolo primario nello sviluppo dello scheletro e sono anche componenti essenziali di numerosi enzimi, vitamine e ormoni.

Nell'allevamento bovino da latte hanno un ruolo fondamentale nell'ottimizzazione delle fermentazioni del rumine, nelle performance produttive e nella resa della fertilità. Si riscontrano infatti grosse variazioni circa le performance produttive e riproduttive che producono i minerali a seconda di una somministrazione corretta o meno nella dieta.

Accertato che gli alimenti non siano sufficienti a fornire agli animali le corrette quantità di minerali, soprattutto perché i livelli di questi elementi nei foraggi e nei concentrati variano molto, risulta quindi necessario considerare le esigenze e integrare correttamente gli apporti, compito dell'allevatore e del nutrizionista.

L'equilibrio minerale nella dieta, secondo molti autori, è l'aspetto più complesso e delicato dell'alimentazione delle vacche da latte e richiede un approccio pragmatico che comprenda ricerche aggiornate sui fabbisogni, analisi periodiche degli alimenti e delle effettive concentrazioni degli elementi in essi contenuti. Fornire livelli adeguati di minerali è l'effettiva base di partenza per portare a prestazioni e salute ottimali della mandria promuovendo l'economia di stalla.

1.2. Tabella riassuntiva (calcio, fosforo, magnesio, potassio, sodio, cloro e zolfo)

<i>Minerale</i>	<i>Localizzazione e ruolo</i>	<i>Rischi</i>	
		<i>Da carenza</i>	<i>Da eccesso</i>
Ca	Insieme al fosforo rappresenta il 70% di tutti i minerali corporei. Il 99% si trova a livello scheletrico e fornisce una struttura solida in grado di sostenere e proteggere gli organi; la restante parte è in forma ionizzata o legata a proteine plasmatiche ed è implicata nel metabolismo cellulare, nella coagulazione del sangue, nell'attivazione enzimatica e nell'azione neuromuscolare. È inoltre un elemento essenziale per una produzione di latte e un tasso di crescita ottimali.	Impedisce il corretto funzionamento di organi quali utero, mammella, sistema digerente. Deprime l'immunità aumentando il rischio di mastiti, dislocazioni, chetosi, ritenzioni di placenta. Riduce l'ingestione e la ruminazione. Può portare a rachitismo nell'animale in accrescimento e alla mobilizzazione del Ca dalle riserve del tessuto osseo (osteoporosi e osteomalacia) nell'animale adulto.	Anoressia, vomito, coma. Insufficienza renale acuta e aritmie. In lattazione può sostituire fonti proteiche ed energetiche e interferire con l'assorbimento di altri minerali (Zn).

<p>P</p>	<p>Si trova per l'80% sottoforma di idrossiapatite e fosfato di calcio nelle ossa. Il 20% è presente nel sangue con funzioni quali il trasferimento di energia nella cellula attraverso ATP, i tamponi acido-base nel sangue, i sistemi enzimatici, la digestione, la costituzione delle membrane cellulari, del DNA e dell'RNA. Ha un ruolo nel sistema immunitario ed è richiesto dai microrganismi della flora ruminale per la propria crescita, per la digestione della cellulosa e la sintesi di proteina microbica. È un principale componente del latte.</p>	<p>Riduzione della mineralizzazione ossea. Riduzione della ingestione e del rapporto di conversione dell'alimento. Compromissione dell'efficienza riproduttiva con ridotta espressione del calore. Alterazioni delle funzionalità delle cellule immunitarie (Eisenberg et al., 2019). Alterato microbiota ruminale.</p>	<p>Interazioni avverse con altri minerali: causerà gravi problemi a causa dei cambiamenti indotti nel metabolismo del calcio (NRC, 1980) Rari problemi di tossicità data l'escrezione efficiente attraverso feci, urine e saliva. Si possono osservare lieve diarrea e disturbi intestinali.</p>
-----------------	---	---	--

<p>Mg</p>	<p>Si trova per il 70% nel tessuto osseo.</p> <p>Ha ruolo strutturale nello scheletro e ruoli funzionali per il sistema nervoso e muscolare.</p> <p>È implicato nel metabolismo di carboidrati, lipidi e proteine, ed ha un ruolo fondamentale nel metabolismo del calcio.</p> <p>È coinvolto nella produzione di energia cellulare, nella sintesi di DNA ed RNA e nella stabilizzazione delle membrane cellulari.</p>	<p>Tetania da erba (da graminacee): sintomi neurologici come atassia, convulsioni, spasmi muscolari, scialorrea.</p> <p>Disfunzioni biochimiche e funzionali (alterato metabolismo del Ca).</p> <p>Aumento del rischio di patologie del puerperio e calo performances.</p> <p>Nella fase di transizione può predisporre a ipocalcemia.</p>	<p>Sintomatologia difficile da osservare poiché l'eccesso di Mg viene eliminato efficacemente con le urine.</p> <p>Si può osservare diarrea di tipo osmotica (NRC, 2001).</p>
<p>K</p>	<p>Si trova nel liquido extracellulare e nelle cellule muscolari.</p> <p>Mantiene la pressione osmotica, regola l'equilibrio acido-base, il</p>	<p>Nelle nostre realtà di allevamento la carenza è praticamente inesistente.</p>	<p>Rappresenta una problematica nell'immediato parto in quanto provoca una ipocalcemia da</p>

	<p>bilancio idrico, mantiene il potenziale di membrana a riposo ed è coinvolto nella trasmissione neuromuscolare. Ha un potere tampone insieme al sodio. È un'importante componente del latte.</p>	<p>Si verificano anoressia, stasi gastroenterica (acinesia ruminale), decubito prolungato, paresi e perdita di tono.</p>	<p>assorbimento alterato del Mg. Calo ingestione secca e produzione latte (NRC, 2001).</p>
Na	<p>Catione predominante l'ambiente extracellulare. Si trova nel plasma sanguigno e nel tessuto osseo. Coinvolto nel mantenimento della pressione osmotica, regolazione dell'equilibrio acido-base, potenziale a riposo, trasmissione dell'impulso nervoso e contrazione muscolare. Regola il pH ruminale e il trasporto di nutrienti.</p>	<p>PICA con intensa ricerca del sale, perdita di peso, inappetenza e minor ingestione di acqua. Ridotta produzione di latte. Segni più gravi sono l'atassia, tremori, debolezza, aritmie e disidratazione.</p>	<p>Disturbi delle funzioni dell'organismo (edema mammario nel preparto). Ridotta produttività, fertilità alterata, sintomi nervosi e perdita di peso (Byers et al., 2014: NRC, 2001).</p>

<p>Cl</p>	<p>Si trova nell'ambiente extracellulare. È coinvolto nella regolazione della pressione osmotica ed ha un ruolo nella digestione (necessario per l'attivazione dell'amilasi pancreatica). È il principale anione utile per modulare l'equilibrio acido-basico.</p>	<p>Ridotta assunzione di acqua e sostanza secca, calo di peso, calo produzione latte ed elettroliti nel plasma. Alcalosi metabolica.</p>	<p>Disturbi dell'equilibrio acido-base (NRC, 2001).</p>
<p>S</p>	<p>Costituisce amminoacidi (metionina, cisteina e taurina) e vitamine B (biotina e tiamina). Ha un ruolo nella sintesi proteica e nell'attività enzimatica. Partecipa alle attività dei batteri ruminali.</p>	<p>Non sono descritti effetti tossici.</p>	<p>Sintomi neurologici, calo performances produttive e ingestione. Rischio indotto da carenze di Cu e Zn concomitanti, problemi cardiaci e respiratori.</p>

1.3. Principali interazioni tra i macrominerali

Esistono diverse interazioni tra i vari minerali che complicano una facile comprensione del loro assorbimento da parte dell'organismo (Pointillart et al., 1987; Ashmead e Zunino, 1994; Van der Klis, 1994; Jongbloed et al., 1995). Alla base vi è il fenomeno dell'antagonismo tra minerali, ossia l'interferenza con il loro assorbimento: quest'ultimo può essere ridotto quando altri minerali o composti sono presenti nella dieta. Per molti di questi, le concentrazioni dei minerali potenzialmente interferenti di solito non sono sufficientemente elevate da destare preoccupazione; tuttavia, per alcuni, l'antagonismo si verifica comunemente in condizioni di campo.

Verranno di seguito illustrate le più comuni interazioni tra i macrominerali nella bovina da latte.

1.3.1. Ca/P/Mg

Prendendo in considerazione il calcio e il fosforo la loro interazione provocherà effetti positivi e negativi: nel post-parto risulterà positivo che un ridotto apporto di P aumenti la concentrazione plasmatica di Ca fornendo una ridotta prevalenza di ipocalcemia clinica (Cohrs et al., 2018; Grünberg et al., 2019). Ciò è legato all'attivazione della Vitamina D nella sua forma attiva (1,25(OH)₂- vitamina D) che si osserva in situazioni di carenza di P. Questa condizione potrebbe rappresentare un metodo per il controllo dell'ipocalcemia del postparto indipendentemente dalla concentrazione plasmatica di paratormone (PTH), ormone ipercalcemizzante su cui si basano molte strategie per la prevenzione di questa patologia. La concentrazione plasmatica di paratormone, infatti, cala in carenza di P (Cohrs et al., 2018).

Per contro un effetto negativo della loro interazione è dato da una condizione di ipocalcemia che può peggiorare una ipofosfatemia, poiché la produzione di PTH per ristabilire la calcemia provoca un' aumentata perdita di P con la saliva e le urine e un aumento del cortisolo al momento del parto, che ne ridurrà ulteriormente la concentrazione plasmatica. Inoltre, tali eccessi possono interferire con l'assorbimento del magnesio e ridurre l'attivazione della vitamina D nella sua forma attiva, aumentando l'incidenza di ipocalcemia nel postparto (NRC, 2001). L'ipomagnesemia, infatti, influenza il metabolismo del Ca modificando l'attività del PTH e indirettamente della vit. D attiva con due modalità: la prima riguarda la sensibilità dei tessuti all'azione dell'ormone paratiroideo che diminuisce in caso di basse concentrazioni plasmatiche di Mg; la seconda è invece una riduzione della secrezione del PTH attraverso un'interferenza con l'attività della proteina G legata ai recettori sensibili alla concentrazione di Ca. Per questi motivi, quando il livello di Mg plasmatico scende sotto 1,6 mg/dl in prossimità del parto, vi è un aumento della sensibilità all'incidenza di ipocalcemia e collasso puerperale (Goff, 2014).

1.3.2. K/Ca/Mg

Diete ricche di K possono essere un problema, soprattutto nell'immediato preparto, in quanto sono implicate nell'ipocalcemia che si osserva successivamente al parto. I possibili meccanismi attraverso cui il K possa influenzare la concentrazione di Ca sono due: il primo riguarda l'effetto alcalinizzante del K che ha come conseguenza una ridotta sintesi di vit. D attiva a livello renale e quindi un ridotto assorbimento di Ca a livello intestinale; il secondo è legato al ridotto assorbimento di Mg nel ruminante, che può portare a ipomagnesemia, la quale come visto in precedenza va ad

interferire con l'attività del PTH (Bhanugopan et al., 2010). Quando il K viene fornito in eccesso si possono avere ripercussioni negative sull'assorbimento del Mg, con problemi connessi anche al metabolismo del Ca, e un calo dell'ingestione di sostanza secca e della produzione latte, con escrezione di K e aumentata ingestione di acqua (Bhanugopan et al., 2010; National Research Council, 2001). L'effetto negativo dell'assunzione di potassio in eccesso sull'assorbimento del magnesio può essere superato aumentando la concentrazione di magnesio nella dieta.

1.3.3. Na/K e la pompa Na-K-ATPasi

Il sodio, il cloro e il potassio sono minerali essenziali per la funzione cellulare il cui livello è strettamente regolato dagli organi emuntori. La pompa Na-K è un'ATPasi transmembrana elettrogenica che aiuta a mantenere l'equilibrio osmotico e il potenziale di membrana nelle cellule scambiando 3 Na⁺ con 2 K⁺ attraverso la membrana cellulare, per ogni singolo ATP consumato. Il gradiente di concentrazione sostenuto è di basilare importanza per i processi fisiologici dell'organismo e considerando i reni, che hanno un alto livello di espressione di tali pompe, queste permettono la filtrazione di prodotti di scarto del metabolismo, il riassorbimento di amminoacidi e glucosio e la regolazione dei livelli di elettroliti nel sangue mantenendo un adeguato equilibrio acido-base. Uno squilibrio di questi minerali nella razione provocherà l'inibizione della pompa Na-K-ATPasi causando anomalie nei sistemi di trasporto transmembrana per cui le entrate dei nutrienti saranno bloccate e non saranno resi disponibili alle cellule e quindi ai tessuti. In queste condizioni prevarrà una situazione di deficit energetico e la bovina non sarà in grado di sostenere le proprie funzioni vitali.

2. CAPITOLO SECONDO: LA DISPONIBILITA' DEI MINERALI NELLA DIETA

2.1. La nutrizione minerale

Dalle premesse del Capitolo I si evince l'importanza dei macrominerali per il mantenimento delle funzioni vitali e in ambito alimentare-zootecnico ciò è noto da tempo e risulta fondamentale l'elaborazione di un'efficace strategia di dieta per le vacche nella gestione dell'equilibrio minerale. Al di là dei requisiti di base dell'integrazione di minerali durante il periodo di transizione, i drastici cambiamenti nell'equilibrio metabolico dei minerali-chiave durante le fasi del ciclo di vita dell'animale possono avere effetti devastanti sulla vacca. Nasce quindi la necessità di avere un programma che preveda l'apporto dei minerali netto, ossia quello che realmente assimila la bovina massimizzando l'efficacia dell'integrazione minerale.

Il punto di riferimento per i fabbisogni delle bovine preso in considerazione da allevatori e nutrizionisti è storicamente il *National Research Council* (NRC 2001). Si sottolinea come oggi metodiche avanzate di indagine permettano analisi più complete.

Il criterio alla base utilizzato nello stilare queste necessità è quello di distinguere la bovina da latte nelle varie fasi del suo ciclo vitale: prima di tutti vengono i fabbisogni di mantenimento dove vengono considerati i fabbisogni per mantenere le funzioni vitali, la rigenerazione dei tessuti, la produzione di latte, ecc. Vi è in seguito l'accrescimento dove viene presa in considerazione la quota di minerali impiegata per ogni chilogrammo di peso corporeo accresciuto. Vi sono infine i fabbisogni per la gestazione e lattazione che dipenderanno dallo stadio specifico in cui si trova la bovina.

Dati per noti i fabbisogni, vanno però tenuti in considerazione due aspetti: innanzitutto i minerali aggiunti come tali o quelli normalmente presenti negli alimenti non vengono completamente assorbiti dall'animale (questo concetto sarà chiarito nel sotto capitolo seguente). A questa considerazione va aggiunta la grande variabilità presente nella concentrazione di minerali e di vitamine degli alimenti.

2.2. Cenni circa l'assorbimento minerale a livello enterico

Per circolare nel sangue ed essere utilizzati dai tessuti, i minerali della dieta devono essere assorbiti tramite le cellule epiteliali che rivestono il tratto gastrointestinale. La maggior parte dell'assorbimento per la maggior parte dei minerali avviene nell'intestino tenue, il quale è rivestito da un singolo strato di cellule epiteliali unite tra loro da proteine come le occludine e le claudine che formano una giunzione stretta tra cellule adiacenti. La superficie apicale della cellula è in contatto con il lume dell'intestino e presenta numerose sottili pieghe che sporgono nel lume, detti microvilli, che permettono il notevole aumento di superficie disponibile per l'assorbimento. La lamina propria posta al di sotto della membrana basale è costituita da tessuto connettivo lasso con liquidi extracellulari e una ricca rete vascolare e linfatica al suo interno. I capillari vascolari sono fenestrati, con ampie aperture tra le cellule endoteliali, per favorire l'assorbimento di zuccheri, AA e minerali nel sangue (Goff, 2015).

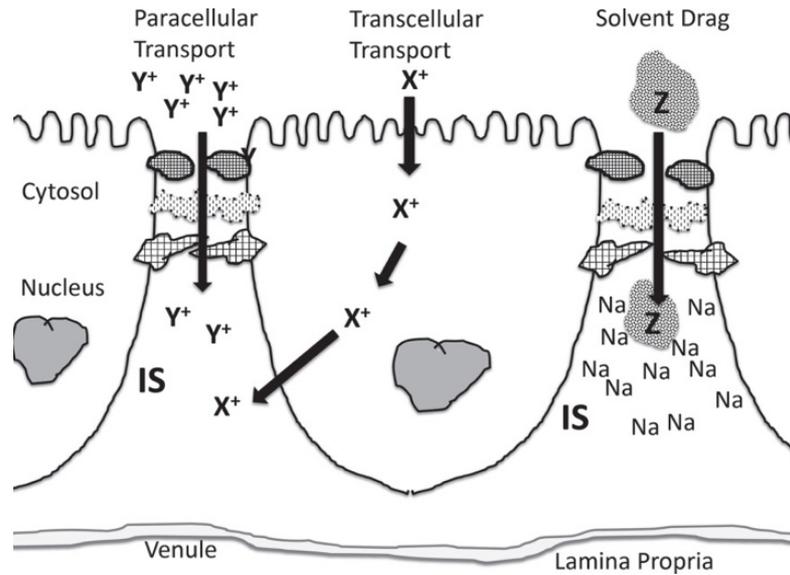


Figura. 1: Gli enterociti che rivestono il tratto gastrointestinale sono collegati tra loro da proteine a giunzione stretta. Sono rappresentati i tre principali meccanismi di trasporto di ioni attraverso le giunzioni strette: con Y⁺ l'assorbimento paracellulare, da Z il trascinarsi del solvente e da X⁺ l'assorbimento transcellulare.

Le giunzioni strette normalmente offrono resistenza all'assorbimento di minerali sia per motivi strutturali che fisici in quanto una differenza di potenziale elettrico attraverso le giunzioni strette, di circa +5 mV nell'intestino tenue e fino a +30 mV nell'intestino crasso (Field, 2003), offre resistenza all'assorbimento di cationi ma fornisce una forza che promuove l'assorbimento di anioni attraverso esse. Questa resistenza può essere però superata se la concentrazione di un minerale, in uno stato liberamente ionizzato (ossia privo di legami a proteine o altre sostanze di grandi dimensioni) ed in soluzione supera la concentrazione ionizzata di quel minerale nei fluidi extracellulari sull'altro lato della giunzione. La forza di diffusione creata dalle differenze nella concentrazione del minerale ionizzato su ciascun lato della giunzione stretta può essere sufficientemente grande da

spingere il minerale nello spazio interstiziale, e da lì passerà attraverso le aperture nell'endotelio capillare e nel sangue. Questo processo è noto come *assorbimento paracellulare*. Poiché la forza motrice per spingere i minerali attraverso le giunzioni strette dipende da grandi gradienti di concentrazione, è più probabile che l'assorbimento paracellulare dei minerali si verifichi nelle diete che hanno una concentrazione relativamente "alta" del minerale (Nellans, 1991). Si sottolinea come questo processo non sia saturabile, cioè ha una capacità illimitata di trasportare minerali nel sangue.

Un secondo aspetto dell'assorbimento paracellulare dei minerali è il movimento dei minerali mentre sono sospesi nell'acqua che si muove attraverso i pori delle giunzioni strette: è noto come trascinamento del solvente o *solvent drag*. Quando l'acqua passa attraverso il poro, anche il minerale sospeso nell'acqua può essere assorbito. Poiché ogni giorno vengono assorbiti molti litri di acqua attraverso il tratto gastrointestinale, il solvente trascinato dai minerali può essere responsabile dell'assorbimento di una porzione sostanziale dei minerali necessari agli animali (Nellans, 1991).

Vi è poi da considerare che le cellule assorbenti del tratto gastrointestinale hanno meccanismi specializzati che consentono l'assorbimento efficiente di molti dei minerali solubili, anche quando la loro concentrazione nella dieta è piuttosto bassa. Questa tipologia specializzata di trasporto è nota come *trasporto transcellulare* ed è un processo diviso in 3 fasi (Goff, 2015). Nella fase 1, il minerale si sposta dai fluidi digestivi e raggiunge la superficie della membrana apicale dove per consentire il movimento di un minerale idrosolubile attraverso il doppio strato fosfolipidico, la cellula fa uso di canali minerali o "ionici" detti trasportatori (proteine specializzate). Altri minerali attraversano la membrana quando co-trasportati con un'altra

molecola: per esempio, il sodio viene spesso co-trasportato nella cellula con molecole di glucosio da speciali proteine trasportatrici del glucosio incorporate nella membrana apicale. Alcuni minerali attraversano la membrana apicale utilizzando proteine trasportatrici che fungono da scambiatori di ioni portando uno ione nella cellula mentre inviano un altro ione, solitamente con la stessa carica, nel lume per mantenere l'elettroneutralità. Nella fase 2, il minerale deve spostarsi dalla membrana apicale alla membrana basolaterale della cellula attraverso il citosol. Per alcuni minerali ciò avviene per semplice diffusione attraverso la cellula mentre per la maggior parte dei minerali svolgono questa funzione delle proteine specializzate chiamate chaperoni. Infine, nella fase tre il minerale deve essere spostato dal citosol della cellula epiteliale attraverso la membrana basolaterale allo spazio interstiziale sotto le giunzioni strette. In alcuni casi il minerale può diffondere la sua concentrazione o gradiente elettrico attraverso i canali proteici nella membrana basolaterale. Tuttavia, in molti casi il processo comporta lo spostamento del minerale da un'area a bassa concentrazione (l'interno della cellula) a un'area ad alta concentrazione (i fluidi extracellulari) e ciò richiede spesso proteine specializzate che formino una pompa minerale all'interno della membrana basolaterale. Queste pompe spesso richiedono un dispendio di energia sotto forma di ATP per alimentare il meccanismo di pompaggio. Gli scambiatori di ioni possono utilizzare l'energia potenziale derivata dagli ioni che entrano o escono dalla cellula lungo il loro gradiente elettrochimico per alimentare il movimento di altri ioni dentro o fuori la cella contro il loro gradiente elettrochimico. Una tattica comune consiste nell'usare la forza generata da 1 o più ioni Na^+ che si muovono nella cellula lungo la loro grande concentrazione e gradiente elettrico per alimentare il movimento di altri ioni o molecole nella cellula attraverso la membrana apicale o spostare gli ioni fuori dalla cellula

attraverso la membrana basolaterale (Schweigel et al., 2006). La pompa elettrogenica Na^+/K^+ ATPasi ripristina quindi la normale concentrazione cellulare di Na e il potenziale di membrana riportando 3 ioni Na^+ nei fluidi extracellulari e facendo entrare 2 ioni K^+ nella cellula (Castillo et al., 2015). A differenza dell'assorbimento paracellulare, il trasporto transcellulare avverrà quando il contenuto minerale della dieta è da marginale a carente, è più probabile che i meccanismi di trasporto transcellulare siano responsabili della maggior parte dell'assorbimento minerale.

È necessario infine ricordare che i minerali monovalenti altamente solubili, come sodio, potassio e cloro possono essere trasportati facilmente. Tuttavia, la solubilità di vari altri minerali è spesso bassa a pH neutro e la loro solubilità dipenderà dalla presenza di altri composti in quanto possono precipitare relativamente facilmente o formare complessi non assorbibili. Inoltre, come già trattato, esistono diverse interazioni tra vari minerali che complicano una facile comprensione del loro assorbimento (Pointillart et al., 1987; Ashmead e Zunino, 1994; Van der Klis, 1994; Jongbloed et al., 1995).

2.3. Terminologia

In letteratura vengono utilizzati termini diversi per valutare ed esprimere il valore nutritivo dei minerali, ad esempio digeribilità, assorbibilità, biodisponibilità o anche bioefficacia (Partridge, 1980). L'EMFEMA (*“European Manufacturers of Feed Minerals Association”*) ha pubblicato una linea guida che presenta una panoramica dei principali minerali essenziali, oligoelementi e minerali specifici utilizzati nei mangimi per animali. Questa linea guida offre informazioni utili sulle caratteristiche chimiche, fisiche e tecnologiche delle diverse fonti minerali ed è un manuale pratico per aiutare nella selezione delle fonti minerali per le formulazioni dei mangimi e per garantire che i minerali siano forniti in quantità sufficienti per ottenere non solo la salute, il benessere e la crescita ottimali degli animali, ma anche per ridurre al minimo l'escrezione di minerali nell'ambiente. Nel testo vengono dapprima chiarite le terminologie più consone nella valutazione dei minerali, sottolineando che prima che possa aver luogo l'assorbimento da parte degli enterociti del tratto gastrointestinale, i minerali devono diventare disponibili in forma ionica che ne permetterà solo così l'assorbimento e il trasporto.

2.2.1. Assorbibilità

Dal punto di vista scientifico, il termine assorbibilità dovrebbe essere utilizzato solo come frazione che viene assorbita dal tratto gastrointestinale (mangime – feci). A questa definizione è ampiamente accostato il termine digeribilità che non è il termine adatto quando riferito ai minerali, sebbene sia ampiamente utilizzato nella pratica.

2.2.2. (Bio)-Disponibilità

Per valutare l'essenzialità o la tossicità di un elemento bisogna valutarne la *biodisponibilità*, ovvero la quota ingerita che viene effettivamente assorbita, trasportata al sito d'azione e convertita nella forma attiva.

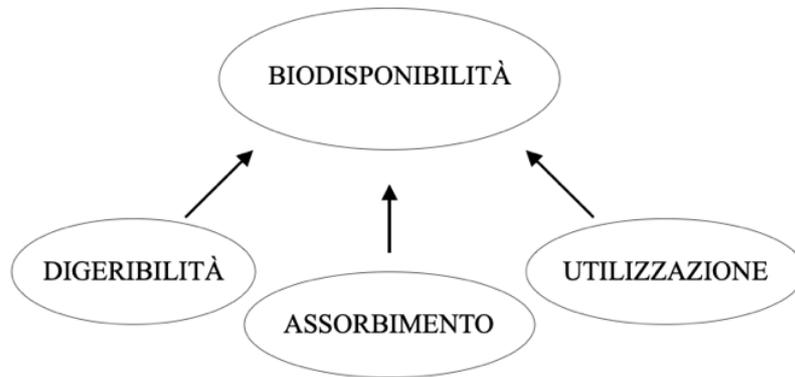
L'ARC (*"Agricultural Research Council"*, 1981) definisce la biodisponibilità come la frazione che viene trattenuta nel corpo [mangime - (feci + urina)]. Tuttavia, poiché in tutti gli studi il valore nutritivo di un minerale è correlato a un minerale di riferimento che si presume sia disponibile al 100% (NRC, 1998), è opportuno utilizzare il termine biodisponibilità relativa. Inoltre, dovrebbe essere indicato anche quale fonte minerale è di riferimento e quale parametro di risposta è stato utilizzato.

I fattori che influenzano la biodisponibilità sono interagenti tra loro e in un'eccellente rassegna, Guéguen (1961) ha discusso questi fattori per il fosforo, applicati successivamente in larga misura a vari altri minerali (vedi anche Huyghebaert et al., 1980; Meschy e Guéguen, 1995).

Sono suddivisi in:

- Fattori intrinseci: specie, genotipo, età, sesso, stato fisiologico, stato nutrizionale e di salute, microflora intestinale, livello e tipologia di produzione;
- Fattori estrinseci: forma chimica del minerale, presenza di fattori antinutrizionali che ne limitano l'assorbimento o che, viceversa, lo favoriscono ma anche gli aspetti ambientali e gestionali che inficiano sullo stato di salute degli animali. Vi sono poi fattori legati alla composizione della dieta e relativi al trattamento tecnologico applicato a questa (DeGroote e Huyghebaert, 1997).

La *biodisponibilità* di un nutriente si può considerare quindi la risultante di tre processi:



- *Digeribilità* = digestione con trasformazione dei nutrienti da sostanze complesse a sostanze semplici, per quanto riguarda i minerali questo termine è fuorviante in quanto questi ultimi non possono subire un processo di “divisione”;
- *Assorbimento* = passaggio attraverso le membrane biologiche delle sostanze semplici precedentemente digerite;
- *Utilizzazione* = trasporto e distribuzione nei vari organi, in particolare il fegato, attraverso il circolo sistemico venoso e linfatico.

2.4. Nutrizione minerale e NASEM 2021

Come illustrato in precedenza, il “*Nutrient Requirements of Dairy Cattle*” (NRC) traccia le linee guida circa la nutrizione della bovina da latte e sintetizza la migliore produzione scientifica mondiale sull’argomento. Si chiama ora NASEM 2021 (“*National Academy of Science, Engineering, Medicine*”) essendo cambiato il nome dell’editore della pubblicazione. Tra l’edizione del 2001 (7[^]) e quella del 2021 (8[^]) sono trascorsi venti anni, un lasso di tempo siderale considerando come è evoluta la genetica delle bovine da latte in questo periodo e la depauperazione minerale di alcuni terreni agricoli, l’eccessivo carico di liquami di altri e la nascita di nuove coltivazioni ai fini di produrre gli alimenti zootecnici. In linea con la versione precedente, l’ottava edizione calcola i fabbisogni secondo un meccanismo di tipo fattoriale e sono state in particolare valutate le quantità necessarie di minerali biodisponibili utili per soddisfare i fabbisogni di mantenimento, accrescimento, gravidanza e lattazione. Relativamente agli apporti, vengono riportati la composizione media degli alimenti, rivalutate le stime relative alla biodisponibilità di minerali nelle diverse classi di foraggi, mangimi e additivi con una particolare attenzione verso le tossicità date da carenze e/o eccessi. Nelle tabelle riassuntive relative ai fabbisogni minimi da considerare per la composizione delle razioni, i valori indicati sono espressi come rapporto fra fabbisogni giornalieri calcolati con l’approccio fattoriale descritto suddiviso per la quantità di sostanza secca che si attende sia consumata per ciascuna categoria produttiva. Nelle *tabelle 1 e 2* sono riportati, rispettivamente, i confronti fra i fabbisogni minimi stimati per le bovine in asciutta e in lattazione nel documento del 2001 e in quello del 2021 con variabilità dei valori indicati legata al peso vivo e alla produttività delle bovine.

Tabella 1. Fabbisogni minimi di minerali biodisponibili per bovine in asciutta tra NRC 2001 e NASEM 2021

	NRC 2001	NASEM 2021
Calcio, % s.s.	0,44-0,48	0,31-0,39
Fosforo, % s.s.	0,22-0,26	0,19-0,21
Magnesio, % s.s.	0,11-0,16	0,13-0,14
Potassio, % s.s.	0,51-0,62	0,62-0,69
Sodio, % s.s.	0,10-0,14	0,16-0,17
Zolfo, % s.s.	0,20	0,20
Cloro, % s.s.	0,11-0,16	0,13-0,14

Tabella 2. Fabbisogni minimi di minerali biodisponibili per bovine in lattazione tra NRC 2001 e NASEM 2021

	NRC 2001	NASEM 2021
Calcio, % s.s.	0,60-0,67	0,60-0,67
Fosforo, % s.s.	0,32-0,38	0,35-0,38
Magnesio, % s.s.	0,18-0,21	0,17-0,18
Potassio, % s.s.	1,00-1,07	0,97-1,10
Sodio, % s.s.	0,22-0,23	0,21-0,23
Zolfo, % s.s.	0,20	0,20
Cloro, % s.s.	0,24-0,29	0,29-0,34

Di seguito si riportano i principali aggiornamenti del NASEM 2021 sui singoli macrominerali:

- *Calcio*: la biodisponibilità del calcio nelle materie prime viene ridotta del 25%. Vengono illustrate le cause e le strategie utili alla prevenzione della ipocalcemia nel post-parto: la produzione di colostro e latte drena una quantità di calcio circa quattro volte superiore a quello subito disponibile in circolo e la bovina può andare incontro a collasso ipocalcémico nei casi più gravi e con frequenza maggiore a una carenza subclinica che risulterà essere responsabile di problemi di natura sanitaria, produttiva e riproduttiva inficiando sull'economia di stalla;
- *Potassio e magnesio*: circa il K^+ si innalzano i requisiti minimi aggiornando i dati "invecchiati" dell'NRC 2001 e si sottolinea come in condizioni di stress da caldo dovrebbe essere apportato in quantità ancora più elevate. Il magnesio viene duplicato nelle diete della prima lattazione e si sottolinea come il suo assorbimento sia condizionato dallo stress, elevate concentrazioni di K^+ , la carenza di Na^+ e la presenza di un pH ruminale superiore. Nel testo spicca inoltre l'approfondito ruolo che viene attribuito al magnesio per la prevenzione dell'ipocalcemia con la rappresentazione di un'equazione in grado di correlare la sua biodisponibilità al contenuto di K^+ nelle razioni;
- *Sodio*: viene riportato come l'aumento del Na da 0,18% a 0,50% della SS aumenti ingestione, produzione e titolo in grasso. Il NASEM 2021 sottolinea come la quantità di Na^+ in razione dipenda strettamente dagli apporti di K^+ , Cl^- e P e la disponibilità di acqua di bevanda di qualità e a volontà;

- *Cloro*: aumenta solamente l'apporto consigliato nelle bovine in lattazione per i requisiti di mantenimento;
- *Fosforo*: sono raccomandati i livelli adeguati a garantire un'ottimale digestione della fibra da parte dei batteri ruminali e il mantenimento della bovina. Il capitolo 14 del NASEM 2021 illustra un approfondimento legato alle necessità di ridurre l'escrezione in ambiente in funzione dell'eccessivo apporto, della biodisponibilità e dell'efficienza di assorbimento;
- *Zolfo*: il testo si sofferma sull'eccesso di zolfo in razione che determina una riduzione dell'ingestione e non vengono presentati particolari cambiamenti circa questo macrominereale.

3. CAPITOLO TERZO: OMEOSTASI MINERALE ED EQUILIBRIO ACIDO-BASE DELL'ORGANISMO

3.1. Equilibrio acido-base e pH

Le principali funzioni metaboliche dell'organismo e il mantenimento di un livello di acidità compatibile con lo svolgimento delle loro funzioni sarà mantenuto solo in presenza di un corretto equilibrio acido-base e così il funzionamento dei minerali che sono essi stessi i primi imputati nella regolazione di tale omeostasi.

La fisiologia acido-base si basa tradizionalmente sul lavoro di Bronsted e Lowry che hanno suggerito indipendentemente che un acido fosse una sostanza in grado di donare un protone (H^+) e una base una sostanza in grado di accettarlo. Nei fluidi biologici come il sangue, le tradizionali considerazioni acido-base ruotano attorno all'equazione di Henderson-Hasselbalch: un generico acido debole nello stato non dissociato può essere descritto come HA ed è considerato un acido perché può donare un protone H^+ . La quantità di HA che si dissocerà è descritta dal logaritmo negativo (base 10) della costante di dissociazione per l'acido (pK_a). Viceversa, nello stato dissociato l'acido debole può essere descritto dai suoi componenti: un protone H^+ e l'anione A^- dove l'anione dell'acido debole è considerato una base perché può accettare un protone. L'equazione di Henderson-Hasselbalch, $pH = pK_a + \log_{10} (\text{base}/\text{acido})$, è stata a lungo clinicamente utile perché consente una facile previsione delle variazioni del pH quando si considerano acidi o basi deboli nei fluidi biologici (come il pH del sangue e la considerazione del sistema tampone bicarbonato). Il ruolo che i processi metabolici e altri possibili acidi e basi potrebbero avere nello stato acido-

base è risolto in questo approccio dall'equazione del gap anionico, dove gap anionico = $([Na^+] + [K^+]) - ([Cl^-] + [HCO_3^-])$ ed ha un valore fisiologicamente compreso tra 10 e 20 mEq/L nel plasma. Quando al di sotto del normale, implica che l'animale è in uno stato di alcalosi; quando è troppo alto, implica acidosi (Carroll, 1977).

Da un punto di vista nutrizionale, uno dei principali problemi dell'approccio tradizionale di Henderson-Hasselbalch alla fisiologia acido-base è che non prevede l'effetto che l'alimentazione di sali anionici (come il cloruro di calcio) ha sul pH del sangue dell'animale. Esiste però un altro modo di considerare la fisiologia acido-base che tiene conto degli effetti che gli ioni forti (ad esempio, Na, Cl e K) e gli acidi deboli (ad esempio, albumina o fosfato inorganico) possono avere sul pH delle soluzioni (Constable, 2014; Trefz et al., 2015). È un approccio quantitativo della differenza ionica forte ed è stato sostenuto da Peter Stewart (1981), un medico canadese.

Come discusso nel capitolo precedente, i minerali vengono quindi assorbiti dalle cellule presenti nel tratto gastro-intestinale e tramite il sangue arrivano a tutti i tessuti dell'organismo. Una volta nel sangue, ne condizionano l'equilibrio acido-base e quindi incidono sul mantenimento del pH ad un livello ottimale per lo svolgersi delle funzioni metaboliche. La condizione alla base per cui i cationi e gli anioni nella dieta alterino il pH del sangue è che questi ultimi vengano assorbiti: Na⁺, K⁺ e Cl⁻ vengono assorbiti con quasi il 100% di efficienza mentre gli anioni solfato possono anch'essi essere assorbiti dalla dieta, ma solo con un'efficienza di circa il 60% (Goff et al., 2004). Lo stesso vale per Ca²⁺, Mg²⁺ e fosfato (PO₄⁻³) che sono generalmente assorbiti con minore efficienza, ma sono spesso presenti in quantità relativamente elevate. A titolo di esempio, se si aggiunge NaCl a

una dieta, praticamente tutti i cationi Na^+ e gli anioni Cl^- vengono assorbiti nel sangue. Ogni carica positiva che entra nel sangue da Na^+ è compensata dall'ingresso di un Cl^- caricato negativamente e la carica del sangue non cambia; quindi, il pH del sangue rimarrà invariato. Considerando l'aggiunta di cloruro di calcio (CaCl_2) alla dieta, di nuovo quasi tutti gli anioni Cl^- entrerebbero nel sangue, ma, tuttavia, è probabile che la proporzione dei cationi Ca^{2+} che entreranno nel sangue sia molto inferiore al 100%, si pensi alle vacche in asciutta dove prima del parto questa percentuale risulta spesso essere inferiore al 20%. Gli erbivori consumano diete che comprendono in gran parte foraggi e questi sono generalmente ricchi di cationi, come K^+ e Ca^{2+} , e relativamente bassi di anioni, come Cl^- , SO_4^{2-} e PO_4^{3-} . Questa differenza tra cationi e anioni altamente positiva aumenta il pH del sangue degli erbivori con diete ad alto contenuto di foraggio leggermente al di sopra di quello dei non erbivori (il pH del sangue venoso della bovina è generalmente $\sim 7,38$). Questo pone l'erbivoro in uno stato di alcalosi metabolica compensata, ossia priva di effetti negativi dovuti al cambiamento di pH. I reni lavorano per evitare che l'alcalosi diventi pericolosa per la vita espellendo il K^+ in eccesso nelle urine e l'alto contenuto di cationi in quest'ultime produrrà un'urina alcalina, fermo restando che si considera l'urina della bovina con un pH fisiologico compreso tra 7,8 e 8,4 (Goff et al., 2004) ed è importante sottolineare come questo valore sia solamente un'informazione parziale che va necessariamente implementata con uno studio del profilo completo di elettroliti presenti nelle urine per rilevare eventuali squilibri minerali e diagnosticare patologie correlate.

Si deduce quindi che l'apporto orale o parenterale di macroelementi provoca inevitabilmente un'alterazione dell'equilibrio che ha come fine ultimo il mantenimento di un pH stabile del sangue che è l'espressione della

concentrazione degli ioni idrogeno in esso presenti. Durante la lattazione, per esempio, vengono generati molti acidi organici come risultato dell'aumento del metabolismo della vacca mentre cerca di consumare e digerire abbastanza calorie per supportare la produzione di latte. L'aggiunta di cationi alla dieta come tamponi ruminali (NaHCO_3 e KHCO_3) o alcalinizzanti ruminali (MgO) può favorire la stabilizzazione del pH ruminale. Mentre si trovano nel rumine, i cationi agiscono per tamponare o neutralizzare gli acidi ruminali ma se i cationi vengono successivamente assorbiti, alcalinizzeranno il sangue.

In presenza di gravi disordini alimentari o patologie, la bovina da latte cerca di mantenere il pH del sangue all'interno di valori stabili tramite tre meccanismi principali coordinati tra loro:

- La presenza di molecole tampone, come il bicarbonato e i fosfati, intra ed extracellulari e lo scambio di ioni Na^+ e K^+ con gli ioni H^+ che si accumulano nelle cellule in seguito al loro metabolismo;
- La ventilazione polmonare che permette la regolazione di concentrazione di anidride carbonica durante gli atti respiratori attraverso gli alveoli polmonari;
- L'escrezione renale di tamponi e ioni H^+ .

Tabella 3. Le principali alterazioni del pH ematico

	pH	H⁺	Sbilanciamento primario	Risposta compensativa
Acidosi metabolica	↓	↑	↓ HCO ₃ ⁻	↓ pCO ₂
Alcalosi metabolica	↑	↓	↑ HCO ₃ ⁻	↑ pCO ₂
Acidosi respiratoria	↓	↑	↑ pCO ₂	↑ HCO ₃ ⁻
Alcalosi respiratoria	↑	↓	↓ pCO ₂	↓ HCO ₃ ⁻

Particolari disordini metabolici provocano queste alterazioni che sono indotte da variazioni nella concentrazione di bicarbonato nel sangue. La risposta compensatoria, a sua volta, è mediata dal sistema respiratorio con un'alterazione della pCO₂ come espressione della concentrazione di acido carbonico ematica. Un incremento della pCO₂ (acidosi respiratoria), o una sua diminuzione (alcalosi respiratoria) che andranno a variare patologicamente il pH, sono compensate in più livelli: nel rene attraverso la secrezione o ritenzione degli ioni H⁺ e del bicarbonato, unitamente a una variazione della frequenza respiratoria polmonare. A causare uno stato di acidosi metabolica può essere l'acidosi lattica, la chetoacidosi e le perdite intestinali di bicarbonato conseguenti alle diarree o alle patologie renali il che porterà a un assorbimento o mobilizzazione maggiore di anioni che cationi. Per la sua compensazione e il ripristino dell'omeostasi la bovina può sfruttare l'iperventilazione e per un definitivo ripristino della normalità aumenta la ritenzione renale di bicarbonato e l'escrezione di acidi come lo

ione NH_4^+ . Il PTH si attiva per catalizzare l'osso a portare sostanze tampone come CaCO_3 in risposta all'aumento di H^+ non tamponato. L'acidosi respiratoria è caratterizzata da un calo del pH ematico ed un aumento della pCO_2 . L'eziopatogenesi è da ricondurre a condizioni che riducono la ventilazione polmonare come le polmoniti e la risposta compensativa risulterà essere la riduzione dell'escrezione renale di bicarbonati. Nell'alcalosi metabolica si ha invece un aumento del pH e dei bicarbonati ematici ed è una condizione spesso associata a disturbi gastroenterici (come il sequestro di fluidi ricchi in cloro nell'abomaso a causa di torsione) delle bovine dove sovrasterà una perdita di ioni idrogeno ed una eccessiva ritenzione di bicarbonato. Altre cause sono lo shock da endotossina, mastite colibacillare e ipocalcemia che provocherà un minor transito intestinale. Si avrà una riduzione della filtrazione glomerulare e un'espulsione maggiore di H^+ e K scambiato con Na provocando urine acide. L'alcalosi respiratoria è infine associata a condizioni patologiche che causano iperventilazione, come le malattie polmonari o le anemie, e comporta una riduzione della pCO_2 associata o meno a una diminuzione compensatoria dei bicarbonati.

Esistono infine condizioni patologiche che affliggono la bovina che possono essere controllate attraverso la possibilità di manipolazione del bilanciamento acido-base del sangue: (1) lo stress da calore è una patologia con effetti contrastanti sulla fisiologia acido-base che colpisce le bovine quando una combinazione tra temperatura esterna ed umidità relativa (THI) la costringono a adattare il suo metabolismo per mantenere costante la sua temperatura interna mentre (2), di maggiore attenzione, è la gestione della sindrome ipocalcémica attraverso la manipolazione del pH ematico attraverso il bilanciamento dei cationi e degli anioni. Bovine nutrite con alimenti in asciutta che apportano grandi quantità di cationi come il potassio

ed il sodio hanno un rischio significativamente più alto di ipocalcemie post-partum e la ragione di questo è che un'eccessiva ingestione di questi cationi tende ad alcalinizzare il sangue costringendo il paratormone, secreto in quantità minori, a ridurre la concentrazione di calcio nel sangue. Tra le misure adottabili per evitare la sindrome ipocalcémica, oltre a ridurre al minimo possibile l'apporto di sodio e potassio nelle ultime settimane di gestazione, cosa non sempre possibile, è comune aumentare la concentrazione di cloro e zolfo nelle diete di questo periodo, quota anionica della razione.

3.2. DCAD

L'acronimo DCAD, tradotto dall'inglese in *differenza di cationi e anioni nella dieta* indica un'equazione sviluppata per facilitare la gestione dell'equilibrio acido-base del sangue nella nutrizione dell'intera lattazione e nella gestione delle dismetaboliche. Misura il contenuto dei principali ioni osmoregolatori (Na^+ , K^+ , Cl^- , S^-) che influenzano inoltre la quantità di acqua di bevanda ingerita, la concentrazione ionica nelle urine e la sostanza secca presente nelle feci. Viene tipicamente sfruttata durante il periodo di asciutta per il controllo della sindrome ipocalcémica.

Diverse equazioni sono state sviluppate per descrivere il DCAD di una dieta e queste equazioni stimano l'effetto relativo che i macrominerali della dieta e le loro cariche potrebbero avere sul pH del sangue dell'animale e il calcolo DCAD richiede la conversione dei vari anioni e cationi in una dieta in milliequivalenti (mEq). Questo viene fatto a causa della diversa chimica di ciascun elemento ed è necessario un sistema che tenga conto dell'impatto di

ciascuno nel calcolo. Di seguito vengono riportate le equazioni di maggior uso:

- $DCAD = (Na + K)/Cl$ (Mongin, 1981)
- $DCAD = (Na + K) - (Cl + S)$ (Ender et al., 1971; Sanchez et al., 1994)
- $DCAD = (Na + K + 0,15 Ca + 0,15 Mg) - (Cl + 0,6 S + 0,5 P)$ (NRC, 2001)
- $DCAD = (Na + K) - (Cl + 0,6 S)$ (Goff et al., 2004)

Negli ultimi vent'anni, l'attenzione si è rivolta al DCAD per la sua importanza nel favorire o ostacolare la mobilizzazione del calcio dalle ossa nel periparto. Un DCAD elevato comporta il rischio di ipocalcemia poiché la carica elettrica dei fluidi circolanti è troppo elevata e il rischio comprenderà l'evoluzione in un'alcalosi metabolica che provocherà l'inibizione di secrezione di paratormone, ormone necessario per la mobilizzazione del calcio. L'alcalosi metabolica causata da una dieta ad alto contenuto di K^+ , e quindi di DCAD, interferisce con la capacità dell'ormone paratiroideo di interagire con i suoi recettori sui tessuti ossei e renali, sconvolgendo l'omeostasi del Ca e la vacca non sarà in grado di compensare il flusso di Ca nella ghiandola mammaria per la produzione di colostro e latte e svilupperà una grave ipocalcemia (Goff, 2014). L'obiettivo di diversi nutrizionisti è stato quindi il limitare l'apporto di K^+ o di neutralizzarne la carica della razione in preparto tramite apporti di anioni. È necessario però porre attenzione al contenuto di Ca^+ e Mg^+ dato che l'anionizzazione della razione, che acidifica il plasma, ne aumenta l'escrezione urinaria e migliora la sensibilità dei tessuti al PTH (Goff et al., 2007). Per avere un indicatore istantaneo che ci dia un'immagine concreta dell'efficienza delle strategie alimentari si misura il pH delle urine. Ragionando sul potassio, dando per

noto che il suo contenuto nei foraggi vari parecchio in relazione alla loro natura e stadio vegetativo, aumentare il suo livello in forma biodisponibile e rendere il DCAD positivo è quindi controproducente in una bovina ad alta produzione. Diversi sono i vantaggi ottenibili da una diminuzione di K^+ nella dieta come dimostrano gli studi di Jenkins che hanno fornito anche un chiarimento sull'aumento di titoli di grasso nel latte, l'influenza all'ambiente ruminale, la produzione maggiore di acidi grassi volatili (aumenta la % di acetato e butirrato) e infine la digeribilità e l'efficienza alimentare che risultano migliorate. Un altro studio, di recente pubblicazione (Weich et al. 2013), realizzato presso l'Università del Minnesota, ha dimostrato che le vacche alimentate con diete anioniche in parto tendono ad avere minor accumulo di lipidi epatici nel post-parto rispetto agli animali di controllo.

Nel NASEM 2021 vengono riportate indicazioni precise relative al DCAD da utilizzare: valori adeguati indurranno una maggiore assunzione di alimenti e di latte; si attendono anche una maggiore % e produzione di grasso per un miglior controllo del pH ruminale e la miglior digeribilità della fibra. Attraverso l'impiego di specifiche equazioni questi effetti sono singolarmente predetti nel modello. Circa questo tema, il volume pone infine l'attenzione sull'analisi del pH delle urine come pratico mezzo per testare l'efficacia degli interventi.

La manipolazione della composizione della dieta prima del parto può avere effetti di lunga durata sulla successiva lattazione. In generale, le vacche in asciutta vengono alimentate con diete per soddisfare i fabbisogni nutrizionali della madre e della prole, evitando un'assunzione eccessiva di nutrienti per ridurre al minimo l'aumento di grasso corporeo (Drackley, 1999). D'altra parte, le vacche nelle ultime 3 settimane di gestazione sono alimentate con

diete per soddisfare i loro fabbisogni nutrizionali, ma queste stesse diete sono formulate con l'obiettivo di ridurre al minimo il rischio di disturbi metabolici del peripartum (Drackley, 1999; Drackley e Cardoso, 2014; Lean et al., 2014). Uno di questi interventi è la manipolazione delle concentrazioni di ioni forti nella dieta per alterare il DCAD prepartum: è stato documentato che l'alimentazione con diete acidogene prima del parto riduca il rischio di febbre da latte all'inizio della lattazione (Ender et al., 1971). In parallelo, ampie revisioni sistematiche riportano che la riduzione del DCAD delle diete prepartum mediante l'inclusione di sali o prodotti acidogeni migliora le concentrazioni di Ca nel sangue al momento del parto (Oetzel, 1991; Charbonneau et al., 2006; Lean et al., 2006). Il consiglio che viene fornito è quindi di avere un DCAD negativo nel preparto.

4. CAPITOLO QUARTO: LA ORMONO-DIPENDENZA DEL METABOLISMO DEI MINERALI CON ACCENNI DI FISIOLOGIA RENALE

L'assorbimento e l'utilizzo dei principali minerali possono essere, oltre al trasporto passivo attraverso la parete intestinale, mediati dal controllo ormonale, che si basa principalmente sulla loro concentrazione nel liquido extracellulare. Gli animali sono quindi in grado di mantenere un'omeostasi nei fluidi intra ed extracellulari per mezzo di diversi meccanismi regolatori. Di conseguenza, si possono riscontrare grandi differenze nell'assorbimento e nell'utilizzo dei minerali, che possono dipendere da una serie di fattori, tra cui lo stato nutrizionale dell'animale. Poiché i requisiti per i minerali principali dovrebbero essere basati sui minerali assorbibili o disponibili piuttosto che sulla quantità totale, vi è la necessità di rivolgere maggiore attenzione ai fattori che influenzano l'assorbimento dei minerali. Ulteriori studi sono in atto e l'aggiornamento circa tale argomento è molto frequente dato il grande margine di sapere ancora disponibile. Verranno di seguito presi in esame i principali ormoni coinvolti nel metabolismo minerale.

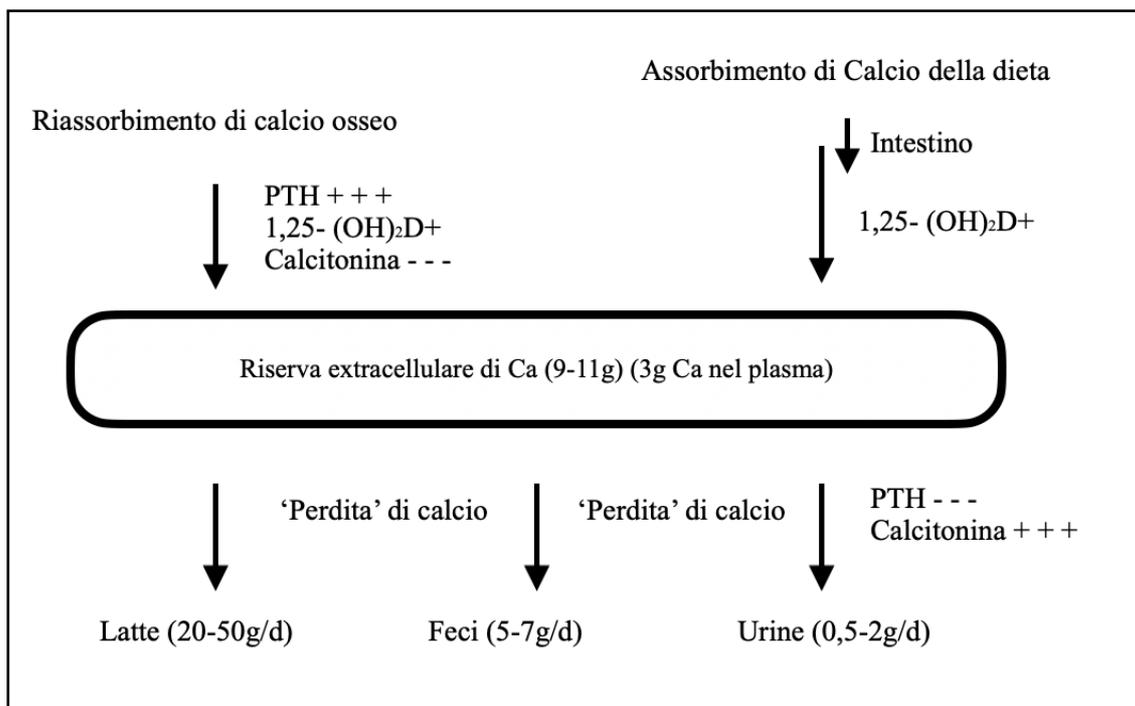
4.1. Il paratormone (PTH)

Adeguate concentrazioni di calcio (Ca) e fosforo (P) nel sangue sono condizioni necessarie per il normale funzionamento dell'organismo. I meccanismi per mantenere le concentrazioni di Ca e P nel sangue funzionano in modo efficiente la maggior parte del tempo ma occasionalmente questi meccanismi omeostatici falliscono e si verificano malattie metaboliche. Una comprensione di come e perché questi meccanismi falliscono può derivare da uno studio approfondito di come questi meccanismi funzionino in

circostanze fisiologiche e da un'esplorazione dei possibili siti di rottura dell'omeostasi.

La regolazione dell'omeostasi del calcio coinvolge tre ormoni principali: l'ormone paratiroideo (PTH), la calcitonina e la vitamina D. Questi ormoni vengono rilasciati dalle ghiandole paratiroidee, dalla ghiandola tiroidea e dai reni e i principali *target* della regolazione sono ossa, intestino e reni. La secrezione del paratormone viene notevolmente aumentata ogni volta che si verifica una diminuzione anche minima della concentrazione di Ca nel sangue (*fig. 2*), si pensi alla produzione di colostro e latte della bovina, e tale ormone ridurrà l'escrezione urinaria di Ca migliorandone il riassorbimento a livello di tubulo renale. Nonostante la quantità totale di Ca che può essere recuperata con l'urina è relativamente piccola, ciò attiverà il rilascio di Ca dalle ossa e stimolerà la sintesi renale della forma attiva ormonale della vitamina D (1,25-diidrossivitamina D) per migliorare l'assorbimento intestinale di Ca alimentare. Questo meccanismo normalmente riporterà la calcemia entro il range fisiologico entro poche ore e il paratormone coordina quindi le azioni utili per il ripristino delle necessarie concentrazioni di calcio. Da notare è che tutti questi sistemi sono meno attivi nelle pluripare rispetto alle primipare e ciò giustifica la maggiore incidenza delle patologie correlate all'aumento del numero dei parti.

Figura 2. I movimenti del calcio



Vengono analizzati singolarmente di seguito i diversi fattori e la sequenza di fenomeni che influenzano la secrezione dell'ormone paratiroideo provocando l'inibizione del metabolismo del calcio, altresì chiamata "cascata ipocalcémica", che saranno coinvolti nell'insorgenza della *milk fever* (vedi capitolo successivo):

- La carenza di magnesio: l'ipomagnesemia può attenuare la risposta del paratormone a un rilevamento di minor concentrazione ematica di calcio in due modi: (1) riducendo la secrezione di PTH in risposta all'ipocalcemia e (2) riducendo la sensibilità dei tessuti al PTH. Come già discusso, l'integrità dell'interazione tra PTH e il suo recettore è vitale per l'omeostasi del Ca;
- Diete a basso contenuto di calcio: chiaramente quando le vacche vengono alimentate con una dieta che fornisce meno Ca di quanto richiedono, le vacche risultano avere un bilancio di Ca negativo. Il

ripristino tempestivo e temporaneo di Ca nel sangue attraverso un trattamento endovenoso di Ca può essere determinante per consentire alle cellule di riguadagnare la sensibilità al PTH;

- Stato acido-base dell'animale e DCAD: l'alcalosi metabolica causata in gran parte da una dieta ad alto contenuto di K^+ interferisce con la capacità dell'ormone paratiroideo di interagire con i suoi recettori inibendone l'azione sui tessuti ossei e renali, sconvolgendo l'omeostasi del Ca. La vacca non è in grado di compensare il flusso di sangue di Ca nella ghiandola mammaria per la produzione di colostro e latte e sviluppa una grave ipocalcemia (Goff, 2014). Per queste ragioni il controllo del problema si attua inducendo un calo del pH (acidificazione) aumentando gli apporti di anioni (cloro e zolfo) nella razione e al contempo riducendo le concentrazioni dei cationi, K in primis. Come trattato, nel 1981 Stewart propose la teoria della differenza ionica forte della fisiologia acido-base che dimostra come se particelle caricate positivamente vengono aggiunte a una soluzione come il plasma, il numero di cationi H^+ diminuirà e il numero di anioni OH^- aumenterà per mantenere l'elettroneutralità della soluzione (la soluzione diventa più alcalina) e viceversa;
- L'eccessiva concentrazione di fosforo: quando la concentrazione di P nel sangue è aumentata al di sopra del limite normale, circa 1,9 mmol/l, il fosfato ha un effetto inibitorio diretto sull'enzima renale che converte la 25-idrossivitamina D in 1,25di-idrossivitaminaD. Pertanto, anche se si verifica la secrezione di PTH e i tessuti lo riconoscono, la vacca non sarà in grado di produrre l'ormone necessario per l'attivazione del trasporto intestinale di Ca.

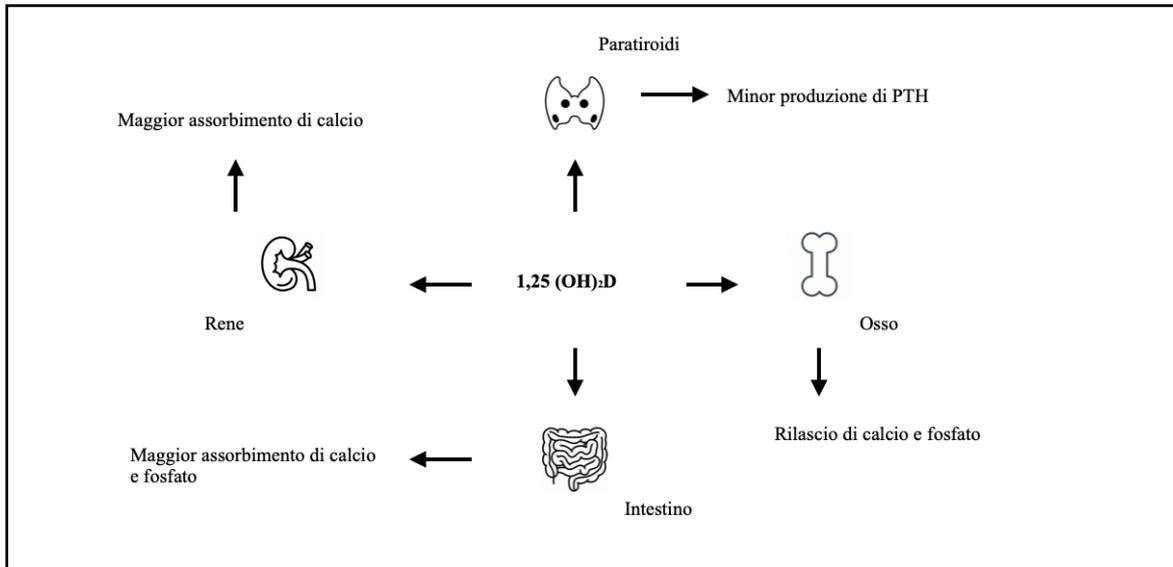
L'omeostasi del fosforo è invece regolata in modo meno vigoroso e il suo controllo ormonale non è completamente compreso, ma si ritiene che sia strettamente correlato e per lo più secondario all'omeostasi del calcio (Horst, 1986; Breves e Schröder, 1991). L'ipofosfatemia e l'ipocalcemia insieme al PTH possono indipendentemente indurre l'idrossilazione renale del 25-idrossicolecalciferolo a 1,25-diidrossicolecalciferolo e i metaboliti della vitamina D promuovono il trasporto intestinale attivo di Ca e P attraverso le cellule epiteliali. L'ormone paratiroideo, secreto durante i periodi di stress da Ca, aumenta l'escrezione renale e salivare di P, che può essere dannosa per il mantenimento delle normali concentrazioni di P nel sangue e questo è uno dei motivi per cui gli animali ipocalcemicici tendono a diventare ipofosfatemicici. Il PTH potrebbe plausibilmente aumentare la concentrazione di P nel sangue, perché stimola il riassorbimento minerale osseo; va ricordato che il PTH viene secreto in risposta all'ipocalcemia, non all'ipofosfatemia. È stato ipotizzato inoltre che l'effetto dei livelli dietetici di P sul metabolismo osseo nelle vacche da latte all'inizio della lattazione dipenda dal contenuto di Ca nella dieta, giustificando l'attenzione a entrambi i minerali durante la preparazione delle diete per le vacche nel periodo di transizione.

4.2. L'aldosterone e il ruolo del rene

Il rene risponde all'esigenze di omeostasi dell'organismo a differenza del sangue che funge solo da meccanismo di trasporto e si occupa di controllare il corretto scambio di fluidi extra e intracellulari, eliminare acqua ed elettroliti, regolare l'assorbimento intestinale dei macrominerali e mantenere l'equilibrio acido-base tramite l'escrezione o il riassorbimento di elettroliti. Le vie paracellulari passive rappresentano circa l'80% del riassorbimento del calcio nel nefrone. Una piccola ma significativa componente del trasporto

attivo del calcio si osserva nei tubuli prossimali e procede in due fasi: l'ingresso del calcio dal fluido tubulare attraverso la membrana apicale e l'uscita attraverso la membrana basolaterale. Si ritiene generalmente che questo trasporto attivo costituisca il 10-15% del totale riassorbimento di calcio del tubulo prossimale ed è principalmente regolato dall'ormone paratiroideo (PTH) e dalla calcitonina. Il PTH promuove la formazione all'interno del rene di $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ che permetterà un miglior assorbimento intestinale di calcio e fosfato e aumenta l'assorbimento renale attivo del calcio. Questi effetti sono invertiti da piccoli cambiamenti nella concentrazione sierica di calcio che abbassano la secrezione di PTH. L'enzima epatico 25-idrossilasi catalizza l'idrossilazione della vitamina D in posizione 25, con conseguente formazione di 25-idrossivitamina D o calcidiolo e successivamente la 25-idrossivitamina D prodotta dal fegato entra in circolo e viaggia verso i reni, legata alla proteina legante la vitamina D. Nel rene, le cellule tubulari contengono due enzimi (1α -idrossilasi e 24α -idrossilasi) che possono ulteriormente idrossilare il calcidiolo, producendo $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, la forma più attiva di vitamina D detta calcitriolo. Quindi, il sistema ormonale della vitamina D è costituito da molteplici forme, che vanno dai precursori cutanei o componenti dietetici al metabolita più attivo, $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ calcitriolo, che agisce sui recettori degli organi bersaglio per mantenere l'omeostasi del calcio e la salute delle ossa entrando in circolo e viene trasportato nell'intestino tenue, dove migliora l'assorbimento intestinale del calcio (*fig. 3*).

Figura 3. Eventi che seguono l'attivazione della vitamina D



L'aldosterone è un ormone mineralcorticoide prodotto nella zona glomerulosa della corteccia surrenale che influenza la regolazione dell'acqua e dei minerali nel corpo. La funzione primaria dell'aldosterone è quella di agire, modulando direttamente e indirettamente, sul tubulo distale terminale e sul dotto collettore dei nefroni nel rene, favorendo il riassorbimento di sodio e acqua e l'escrezione di potassio, contribuendo anche all'equilibrio acido-base. Per eseguire questi compiti influenza i canali epiteliali del sodio, le pompe di scambio sodio-potassio, le ATPasi di ioni idrogeno e i trasportatori di cloro-bicarbonato. L'aldosterone influenza la pressione sanguigna regolando il gradiente di sodio nel nefrone per aumentare o diminuire l'acqua riassorbita per contribuire al volume del fluido extracellulare. Questo, tuttavia, non deve essere confuso con l'effetto dell'ormone antidiuretico (ADH), noto anche come vasopressina che viene spesso rilasciato contemporaneamente all'aldosterone per supportare il riassorbimento dell'acqua nel fluido extracellulare mobilitando i canali dell'acquaporina verso la membrana apicale (rivolta verso il lume) delle cellule principali nel tubulo collettore. Nel complesso, l'aldosterone è un attore chiave nella regolazione multifattoriale del sodio, del potassio, della

pressione sanguigna e dell'equilibrio acido-base e influenza gli stadi finali dell'assorbimento di elettroliti e acqua all'interno del nefrone prima che il contenuto del tubulo venga escreto nelle urine. Questo rappresenta solo circa il 5-10% del riassorbimento totale di sodio. Quando uno stimolo come l'ipovolemia e la carenza di concentrazioni plasmatiche di Na (Goff, 2006) ma anche un eccesso di K^+ nel plasma innesca il RAAS (sistema renina-angiotensina-aldosterone), la renina viene secreta dalle cellule iuxtaglomerulari distali renali e ciò permette il richiamo di Na dai nefroni, dal tratto enterico e dalle ghiandole salivari; quindi, l'angiotensinogeno viene scisso in angiotensina I. L'enzima di conversione dell'angiotensina (ACE) dai polmoni converte l'angiotensina I in angiotensina II, che a sua volta stimola la produzione di aldosterone. Nei casi di ipervolemia, al contrario, risulta esserci una riduzione del tono simpatico, il RAAS non viene attivato e vi è la secrezione del peptide natriuretico atriale ANP che andrà a inibire il riassorbimento di Na^+ a livello renale, aumentandone quindi l'escrezione (Byers, 2014). Infine, l'aldosterone agisce sui tubuli distali e i dotti collettori del rene, aumentando il riassorbimento di Na^+ dal lume, in scambio di ioni K^+ , che vengono quindi espulsi attraverso le urine. Agisce anche a livello gastrointestinale, aumentando la secrezione salivare e pancreatica di K^+ .

A seconda dei parametri fisiologici specifici, l'aldosterone può:

- Aumentare il riassorbimento di sodio;
- Aumentare la ritenzione idrica;
- Aumentare l'escrezione di potassio;
- Aumentare l'escrezione acida (H^+);
- Aumentare l'escrezione di bicarbonato (HCO_3^-) e il riassorbimento di cloruro.

5. CAPITOLO QUINTO: IL PERIPARTO E GLI SQUILIBRI MINERALI

5.1 Aspetti generali

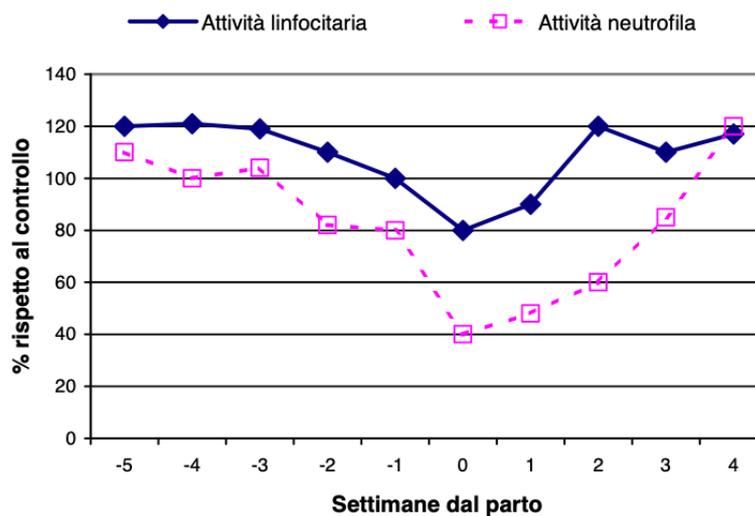
Il *periodo di transizione* si riferisce al processo di cambiamento e adattamento di una vacca che non produce latte, partorisce e inizia quindi la lattazione. Viene tradizionalmente considerato tra le tre settimane prima del parto e le tre settimane successive (Drackley, 1999). Molti autori estendono ai 60 giorni prima del parto e ai 30 giorni successivi questo periodo che è considerato uno dei più difficili da gestire in quanto si articola su diversi livelli e ognuno di questi ricopre un ruolo cruciale. Comprende il passaggio di una vacca dalla fase di asciutta (e quindi di tarda gravidanza) alla lattazione e la bovina deve sopportare la crescita fetale, la preparazione alla produzione di latte e colostro oltre che chiaramente compensare il proprio mantenimento vitale. L'adattamento coinvolge la dieta, l'attività fisica, i cambiamenti ormonali e metabolici e numerose sono quindi le sfide fisiologiche che affronta in questo periodo e una gestione appropriata risulterà fondamentale per garantire delle prestazioni di successo (salute, produzione di latte e riproduzione) nelle successive stagioni. Gli eventi significativi del periodo del periparto sono spesso determinati da eventi iniziati in precedenza e possono alterare eventi molto lontani nel futuro. Il periodo del periparto nella vita della vacca ha acquisito un nuovo e accresciuto significato associato a una migliore definizione e comprensione degli eventi biologici durante tale periodo. Notevole è l'importanza degli effetti biologici sulla produttività economica dell'unità lattiero-casearia: è infatti la futura capacità riproduttiva dell'animale, una delle principali preoccupazioni nel suo valore economico, spesso correlata agli eventi del periparto.

Una delle sfide principali durante questo periodo è un calo fisiologico dell'ingestione dovuta in parte all'aumento delle dimensioni del vitello e alla riduzione del rumine, associato ad un aumento del fabbisogno energetico (all'incirca il doppio dall'inizio della produzione di latte) che provoca un bilancio energetico negativo (Drackley, 1999), cambiamenti molto pesanti sul profilo minerale e lo stress metabolico che ne consegue può avere evoluzioni drammatiche. Dopo il parto è possibile quindi che l'equilibrio acido-base sia spostato verso l'acidità per cui la vacca risulterà in acidosi metabolica e di nuovo avrà difficoltà a mangiare e ridurrà l'ingestione. Quanto prima ristabilirà l'equilibrio acido-base e l'equilibrio idrico-salino tanto prima tornerà a ingerire la quota necessaria di sostanza secca ed è bene ricordare come i boli orali permettano di anticipare tale ripristino. Per adattarsi al bilancio energetico negativo subito dopo il parto e *auto-fornirsi* l'energia necessaria per la produzione di latte, la vacca mobilita grandi quantità di tessuto corporeo (principalmente grasso, con quantità minori di proteine), che si riflette in una perdita di BCS. Obiettivi di una possibile *check-list* di successo risultano essere l'assicurarsi che le vacche siano a un punteggio di BCS corretto, identificare gli animali più a rischio, assicurare agli animali alimenti freschi e appetibili, esenti da tossine, ben conservati e fermentati, che sappiano equilibrare dal punto di vista fisiologico aspetti metabolici quali il bilancio energetico, la formazione di acidi grassi non esterificati (NEFA), ed un corretto metabolismo del calcio, giocando un ruolo importante nell'evitare l'insorgenza di una sensibile riduzione della capacità di risposta immunitaria dell'animale. Il successo del periodo di transizione determina effettivamente la redditività della vacca durante quella lattazione e le limitazioni nutrizionali o gestionali durante questo periodo possono impedire alla vacca di raggiungere la massima produzione di latte considerando che la sfida principale affrontata dalle vacche è un improvviso

e marcato aumento del fabbisogno di nutrienti per tale produzione, in un momento in cui il DMI, e quindi l'apporto di nutrienti, è molto rallentato. I vincoli imposti dalle assunzioni carenti, insieme ad altri fattori di stress associati al parto e agli adattamenti alla lattazione, contribuiscono senza dubbio all'elevata incidenza di disturbi di salute durante questo periodo. I dati dell'indagine sull'incidenza della malattia nelle vacche in transizione variano ampiamente e sebbene le incidenze medie dei disturbi non siano sorprendenti, la gamma di incidenze riportate è molto ampia. In aggiunta, nel close-up, ossia la bovina nelle ultime tre settimane di gestazione, la vacca va incontro a una netta riduzione della funzione immunitaria (vedi *fig. 4*) e le ragioni sono complesse: gli studi suggeriscono che i cambiamenti metabolici derivanti dall'inizio della lattazione e il parto siano le cause principali (Nonnecke et al., 2013) ma anche la presenza del feto che innalza il cortisolo ematico materno. L'immunodepressione presente in questo periodo comprende ogni elemento del sistema immunitario, sia innato che acquisito, e diverse prove dirette dimostrano come la scarsa risposta immunitaria sia predittiva di maggiore incidenza di infezioni e che elevate concentrazioni di chetoni nel sangue e di acidi grassi non esterificati, nonché ipocalcemia, limitino la reattività delle cellule immunitarie ai segnali patogeni. Inoltre, vacche con BCS eccessivo sperimentano cali più drammatici della funzione immunitaria al momento del parto, probabilmente come conseguenza dello stress ossidativo. Le conseguenze sono evidenti: i cambiamenti nei sistemi ormonali, digestivi, immunitari e neurologici aumentano il rischio non solo di disturbi metabolici (che riflettono lo stato fisiologico della vacca) ma anche di malattie infettive, principalmente metriti e mastiti, durante la transizione (Cai et al., 1994; Grohn e Rajala-Schultz, 2000). Inoltre, la scarsa disponibilità di glucosio spiega in parte la ridotta funzione delle cellule immunitarie all'inizio della lattazione avendo

quest'ultimo effetti stimolatori sulla risposta immunitaria, che includono una maggiore proliferazione e differenziazione dei leucociti e una migliore chemiotassi e fagocitosi da parte dei neutrofili. L'inizio della produzione di latte pone quindi enormi sfide ai meccanismi responsabili dell'omeostasi energetica, proteica e minerale nella vacca e sono proprio l'equilibrio energetico, proteico e/o minerale negativo e i flussi ormonali associati all'inizio della lattazione ad essere responsabili dell'immunosoppressione osservata nel periparto.

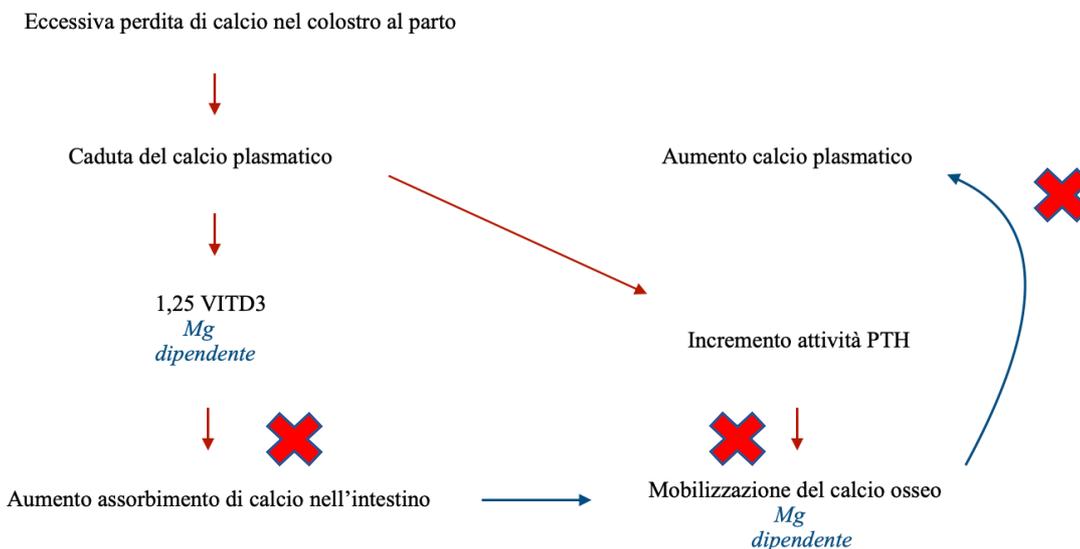
Fig. 4. Studio sulla funzione immunitaria nel periparto bovino (da Goff & Horst, 1997).



Infine, vari studi hanno evidenziato la correlazione tra alimentazione e immunità nel periparto in funzione delle dosi e ottimali biodisponibilità dei componenti della razione ma è bene ricordare che una ridotta funzione immunitaria è solamente un fattore predisponente all'insorgere di diverse patologie la cui manifestazione necessita la presenza di altri fattori scatenanti e che le stesse patologie metaboliche possono provocare una riduzione della risposta immunitaria (si pensi all'aumento del cortisolo ematico, noto immunodepressivo, indotto dal collasso puerperale).

5.2 La “Milk Fever”

Figura 5. Squilibri nell'omeostasi del calcio plasmatico in vacche in transizione



Durante il periparto, sia per la produzione del colostro che del latte, vengono eliminate grandi quantità di calcio (basti pensare che con il latte viene eliminata una quantità di calcio all'incirca di 20-25g/gg) per cui spesso dopo il parto la bovina non riesce a compensare tale squilibrio con un altrettanto rapido riassorbimento di calcio dalle urine, dall'intestino e dalle ossa (*fig. 5*). Quando la concentrazione di calcio nel sangue scende sensibilmente al di sotto degli 8 mg/dl la bovina presenta un mancato funzionamento della muscolatura sia liscia che striata fino ad arrivare al decubito (*sindrome della vacca a terra*). La febbre da latte, o *paresi del parto*, è una malattia riconosciuta fin dal XVIII secolo, associata a grave ipocalcemia, che è accompagnata a sintomi quali perdita di appetito, riduzione della temperatura corporea e ansia (Houe et al., 2001). Con il progredire della malattia, la vacca diviene incapace di alzarsi e se non viene somministrato

alcun trattamento la maggior parte delle vacche colpite sarà destinata alla morte (Hibbs, 1950). L'adattamento dell'organismo alle nuove esigenze inizia immediatamente, con aumenti dell'ormone paratiroideo e del calcitriolo (Penner et al., 2008), ma, nonostante ciò, le concentrazioni plasmatiche di calcio ionizzato possono diminuire fino a un livello in cui si sviluppa la patologia. Il mancato adattamento a tali cambiamenti fisiologici comporterà la *milk fever*, un fattore predisponente per molte altre patologie del periparto, quali ritenzione di placenta, chetosi e mastite (Correa et al., 1990), e potrà avere un'influenza negativa anche sulla produzione del latte (Rajala-Schultz et al., 1999). Queste conseguenze verranno descritte nel prossimo capitolo.

Esiste un'elevata variabilità nell'incidenza della febbre da latte tra gli allevamenti (McLaren et al., 2006), il che implica che ci sono possibilità di influenzare l'incidenza della febbre da latte attraverso differenti metodi di gestione. Le misure preventive contro la *milk fever*, come la mungitura limitata dopo il parto e l'integrazione orale di calcio durante il parto, sono spesso applicate nella pratica (Hansen et al., 2007; Sørensen et al., 2002). I livelli di minerali nella dieta somministrata alle vacche in asciutta durante l'ultima fase della gestazione si sono dimostrati importanti per l'incidenza della febbre da latte al parto (Lean et al., 2006; Goings et al., 1974) ed è noto che un basso livello di calcio pone la vacca in uno stato di risparmio di calcio e facilita l'adattamento agli elevati fabbisogni di calcio del post partum.

In media, il 5-10% delle vacche da latte soccombe alla febbre da latte clinica, con la letteratura che suggerisce che il tasso di incidenza nelle singole mandrie raggiunga il 34% (Houe et al., 2001).

La concentrazione più bassa di calcio nel sangue di solito si verifica entro 12-24 ore dal parto e generalmente ritorna alla normalità nelle vacche sane entro 2-3 giorni. L'ipocalcemia clinica è la malattia più riconosciuta nei bovini da latte dagli allevatori, con un tasso di incidenza intorno al 5%. L'incidenza aumenta con una maggiore produzione di latte e la successiva lattazione e le primipare raramente sviluppano l'ipocalcemia clinica in quanto producono meno colostro e latte e possono mobilitare più rapidamente il calcio dalle ossa nel loro scheletro in crescita. Le vacche da latte con ipocalcemia subclinica non mostrano sintomi evidenti ma hanno una bassa concentrazione ematica di calcio di solito entro 24 ore dal parto pari o inferiori a 8,0 mg/dl (2,0 mmol/l). Il Prof. Garrett Oetzel (Università del Wisconsin) ha stimato che il costo economico dell'ipocalcemia subclinica in una mandria da latte sia quattro volte il costo dei casi clinici, con un conseguente impatto sostanziale sulla redditività delle operazioni lattiero-casearie. Questo aumento del costo economico è attribuito al maggior numero di vacche con ipocalcemia subclinica rispetto a quella clinica, anche se un caso subclinico costa il 40% di un caso clinico. Recentemente, Martinez e colleghi dell'Università della Florida hanno suggerito che il limite inferiore di concentrazione ematica del calcio dovrebbe essere aumentato a 8,5 mg/dl (2,1 mmol/l) dato che le vacche al di sotto di questa concentrazione presentavano maggiori probabilità di sviluppare metrite o disturbi metabolici. Utilizzando questo criterio più elevato, i dati di Reinhardt e collaboratori indicano che oltre il 65% delle vacche pluripare e il 51% delle manze erano al di sotto di questa soglia. Questi dati e quelli di altri ricercatori indicano che (1) l'ipocalcemia subclinica si verifica in un gran numero di vacche da latte, ma (2) non tutte le vacche fresche subiscono un calo della concentrazione di calcio nel sangue subito dopo il parto. La ricerca suggerisce che l'ipocalcemia subclinica può

essere direttamente associata ad altri disturbi metabolici e può essere la causa primaria o secondaria di riduzione delle prestazioni.

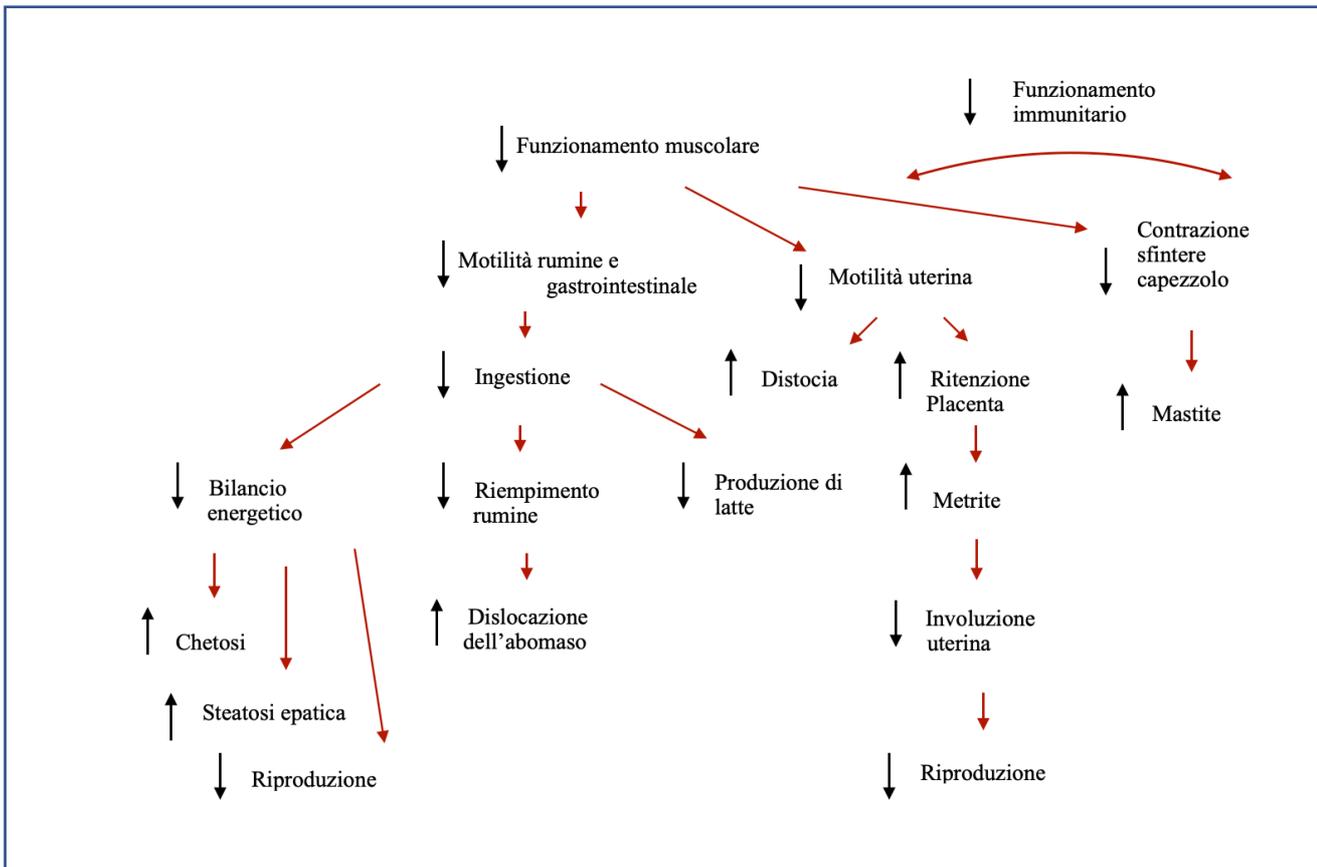
Sebbene il controllo dei disturbi del metabolismo macrominerales, e in particolare della febbre da latte, costituisca una piccola parte della gestione complessiva della vacca in transizione, viene posto spesso al centro dell'attenzione. Di conseguenza, è fondamentale garantire che qualsiasi programma per la transizione sia efficace nel controllo degli squilibri macrominerali al fine di prevenzione riducendo al minimo il rischio. Il primario trattamento per la febbre da latte oggi consiste nell'infusione endovenosa di borogluconato di calcio, che fornisce ioni calcio e ne mantiene la concentrazione plasmatica a un livello adeguato fino a quando il metabolismo della vacca non si è adattato al nuovo fabbisogno di calcio. In precedenza, l'insufflazione di aria nella mammella veniva utilizzata con successo per trattare la febbre da latte sebbene la causa della sindrome fosse sconosciuta quando fu inventato questo trattamento: la conseguenza ricercata dell'insufflazione era aumentare la pressione nella mammella, diminuendo così la produzione di latte e la sua secrezione, come spiegato da Mohler (1904). Ciò è stato efficace perché la ridotta secrezione di latte ha comportato una diminuzione della rimozione del calcio dal plasma. Recentemente è stato anche dimostrato che l'insufflazione della mammella migliora il recupero dalla febbre da latte in combinazione con l'infusione endovenosa di calcio (Andersen, 2003). A tale metodologia si abbina l'utilizzo di regimi alimentari nel close-up a basso contenuto di Ca e di P per indurre nelle bovine uno stato di lieve ipocalcemia in grado di attivare i meccanismi di regolazione dell'omeostasi del calcio (Ramberg. et al., 1995).

5.3. L'ipocalcemia alla base delle patologie correlate agli squilibri minerali nel periparto

La febbre da latte e l'ipocalcemia subclinica sono i disturbi più importanti che colpiscono le vacche da latte in transizione. È importante rendersi conto che la febbre da latte è correlata al verificarsi di molti altri problemi, la cui tempistica suggerirebbe che la febbre da latte sia almeno uno, se non l'unico, fattore predisponente che conduce a una pessima fase di transizione o disturbi della prima lattazione. Inoltre, presentando tali patologie una minima ereditabilità ($h^2 = 0-0,5$) ne consegue che l'intera gestione aziendale abbia un ruolo di primaria importanza nel determinare la loro incidenza all'interno degli allevamenti di bovine da latte.

L'insorgenza di febbre da latte o di ipocalcemia subclinica è correlata all'aumento dei tassi di incidenza di molti altri disturbi della vacca in transizione (*fig.6.*): ad esempio, è stato riportato che le bovine con ipocalcemia subclinica hanno una probabilità fino a otto volte maggiore di sviluppare mastite nella successiva lattazione, tre volte maggiore di sviluppare distocia e una probabilità da due a quattro volte maggiore di sviluppare una dislocazione dell'abomaso. Pertanto, è della massima importanza prevenire sia la febbre da latte che l'ipocalcemia subclinica. Allevatori, veterinari, nutrizionisti e altri consulenti aziendali spesso si concentrano sui risultati, come la produzione di latte e la fertilità, in assenza di una revisione dei fattori "a monte" come le pratiche di gestione, i regimi nutrizionali e lo stato di salute della mandria.

Figura 6. Conseguenze della 'Milk fever' e dell'ipocalcemia subclinica



È noto da tempo che la febbre da latte e l'ipocalcemia subclinica riducono la capacità della vacca in transizione di effettuare la contrazione della muscolatura liscia e scheletrica. Più recentemente è stato inoltre riportato che sia la febbre da latte che l'ipocalcemia subclinica innalzano il livello di immunosoppressione sperimentata dalle vacche da latte durante il parto (Kimura et al., 2006). Sebbene sia difficile spiegare con precisione l'eziologia di come la febbre da latte provochi l'insorgenza di molti altri disturbi della vacca in transizione, questi comprovati fenomeni fisiologici delle vacche ipocalcemiche devono essere sempre tenuti presenti.

Poiché il rischio di incorrere in disturbi post-parto varia a seconda della gravità dell'ipocalcemia, diventano necessari diversi punti di *cutoff* del Ca sierico per valutare l'effetto sulle diverse malattie postpartum.

Le tre forme di ipocalcemia sono:

- Clinica ($<1,4$ mmol/l Ca): l'animale mostra incapacità di mantenere la stazione quadrupedale, condizione nota come *collasso puerperale*, dovuta all'azione del Ca nel rilascio dei neurotrasmettitori a livello di placca neuromuscolare. L'ipocalcemia clinica al parto ha una prevalenza di circa il 5-7 % e i sintomi clinici si dividono in diversi stadi, tra cui lo stadio 1 dove la vacca è ancora in grado di stare in piedi e in seguito possono includere eccitabilità, nervosismo, variazioni di peso e trascinamento degli arti posteriori;
- Subclinica (<2 mmol/l Ca): in questa forma, più frequente, non si osserva il collasso, ma una serie di alterazioni secondarie legate alle funzioni che il Ca svolge nell'organismo. Il *cut-off* per questa condizione è stato molto discusso e sono stati proposti più valori, compresi tra 8,00 e 8,8 mg/dl (Caixeta et al., 2017). Può colpire fino al 25% delle primipare e più del 50% delle pluripare (Reinhardt, 2011);
- Subclinica-Cronica: si riscontra in piena lattazione quando la spinta alla produzione di latte è massima ma la calcemia cala e rimane a livelli insufficienti per giorni consecutivi. Spesso sotto diagnosticata nonostante la sua frequenza, compromette la longevità e la produzione. Le bovine affette da ipocalcemia subclinica-cronica presentano una possibilità significativamente minore di rimanere gravide nei primi 150g di lattazione.

Le conseguenze cliniche dell'ipocalcemia sono le seguenti:

- 1) **Distocia e prolasso uterino:** si possono facilmente apprezzare i problemi che una ridotta capacità di contrazione della muscolatura liscia e scheletrica potrebbe causare alle vacche in travaglio. Diversi studi pubblicati indicano una maggiore probabilità di distocia nelle vacche ipocalcemiche. In alcuni casi l'aumento delle probabilità di distocia è stato riportato essere sei volte superiore con altri autori che indicano un aumento della probabilità di circa 2,5-3 volte rispetto a quello delle vacche con calcemia corretta (Curtis et al., 1983; Correa et al., 1993). Oltre alla distocia, è stato riportato che le vacche affette da prolasso uterino hanno una concentrazione sierica di calcio inferiore rispetto alle vacche normali (Risco et al., 1984). Inoltre, in quest'ultima pubblicazione, il 19% delle vacche affette da prolasso uterino sono state classificate come colpite da ipocalcemia grave (Ca sierico <4mg/dl) mentre un ulteriore 28% è stato classificato affetto da ipocalcemia moderata (Ca sierico da 4,1 a 6,0 mg/dl);
- 2) **Ritenzione di placenta:** sono stati citati diversi studi che indicano un aumento del rischio di insorgenza di ritenzione di placenta in seguito a ipocalcemia, con una probabilità fino a tre volte maggiore di sperimentare tale patologia rispetto alle vacche normali (Houe et al., 2001). Inoltre, c'è anche un grande effetto indiretto della febbre da latte poiché è un fattore di rischio per la distocia e la distocia è a sua volta un fattore di rischio per la ritenzione placentare (Correa et al., 1993). Recentemente, Melendez (2004) ha sperimentato e riportato una concentrazione plasmatica di Ca significativamente inferiore (classificata come subclinica) nelle vacche con membrane fetali ritenute rispetto alle vacche con espulsione placentare normale;

- 3) **Endometrite e compromissione immunitaria:** i collegamenti tra ipocalcemia, distocia e ritenzione di placenta discussi in precedenza, insieme al legame riportato tra febbre da latte e l'immunosoppressione nel periparto, forniscono una solida base per l'associazione suggerita alla frequenza di endometrite (Kimura et al., 2006). A sostegno di ciò, Whiteford e Sheldon (2005) hanno recentemente osservato un tasso di incidenza significativamente più alto di endometrite nelle vacche che soffrivano di ipocalcemia clinica rispetto alle vacche normocalcemiche. Gli autori ritengono che non sia sufficiente associare tale patologia ad un'eziologia connessa a problemi di contrazione muscolare e ad una bassa ingestione del ruminante ma sia necessario considerare anche i neutrofili che risultano drasticamente meno abili nella sorveglianza cellulare e minori in numero andando quindi a compromettere il sistema immunitario. A tal proposito, lo *United States Animal Disease Center* ha infatti dimostrato come la risposta immunitaria sia fortemente correlata con l'aumento di calcio libero intracellulare, necessario per l'attivazione di una serie di enzimi e cellule deputate all'eliminazione di patogeni;
- 4) **Fertilità:** una condizione di ipocalcemia determina una ridotta fertilità nelle vacche da latte a causa del suo effetto sulla funzione muscolare uterina, una più lenta involuzione (Borsberry e Dobson, 1989) e un ridotto afflusso di sangue alle ovaie (Jonsson e Daniel, 1997). Whiteford e Sheldon (2005) hanno riferito che le bovine con ipocalcemia clinica avevano un diametro maggiore del corno uterino gravido e del corno uterino non gravido tra 15 e 45 giorni dopo il parto (indicativo di un'involuzione uterina più lenta) e una probabilità significativamente ridotta di avere un corpo luteo (indicativo dell'ovulazione sin dal parto) rispetto alle vacche normali. Inoltre,

Kamgarpour et al. (1999) hanno riportato che le vacche subclinicamente ipocalcemiche hanno meno follicoli di dimensioni ovulatorie ai giorni 15, 30 e 45 dopo il parto e follicoli più piccoli alla prima ovulazione rispetto alle vacche normali. Altri autori (Borsbery e Dobson, 1989) hanno descritto un aumento del numero di “servizi” e quindi inseminazioni per concepimento (1,7 vs 1,2), un aumento dell'intervallo dal parto al primo servizio (68 vs 61 giorni) e un aumento dell'intervallo dal parto al concepimento (88 vs 76 giorni) per vacche con febbre da latte. Tra gli effetti riproduttivi osservati ci sono inoltre un ritardo del primo estro dal parto, una diminuzione della manifestazione dell'estro e una riduzione del numero di animali gravidi al primo calore (Caixeta et al., 2017; Rodríguez et al., 2017);

5) **Mastite:** è stato ipotizzato che le ragioni di questo fenomeno siano da ricondurre a una riduzione della funzione della muscolatura liscia dello sfintere del capezzolo e quindi una facile via di infezione dopo la mungitura di patogeni ambientali e a una soppressione esacerbata dell'immunità nelle vacche ipocalcemiche (Goff, 2003). Si ritiene che il cortisolo sia un componente importante dell'immunità soppressa sperimentata dalle vacche da latte durante il periparto ed è stato dimostrato che sia la febbre da latte che l'ipocalcemia subclinica provochino un aumento della normale risposta al cortisolo al parto (Horst e Jorgensen, 1982). Inoltre, l'ipocalcemia è associata a ridotti depositi intracellulari di Ca nelle cellule mononucleari del sangue periferico e che ciò aggrava l'immunosoppressione del periparto (Kimura et al., 2006). Pertanto, l'associazione epidemiologica riscontrata tra la febbre da latte e l'insorgenza di mastite è facilmente supportata da diversi potenziali meccanismi biologici, alcuni dei quali sono stati segnalati come più rilevanti nelle vacche da latte

peripartum. Mentre generalmente la febbre da latte viene associata al giorno del parto, molte vacche rimangono ipocalcemiche subcliniche per la prima settimana di lattazione (Goff et al., 1996) per cui tendono a trascorrere più tempo sdraiate rispetto agli animali normocalcemici e anche in questo caso, ciò aumenta l'esposizione del capezzolo agli opportunisti ambientali;

- 6) **Funzionalità del tratto gastrointestinale e dislocazione dell'abomaso:** diversi autori hanno riportato una riduzione della motilità del ruminale e dell'abomaso (Daniel, 1983, Jorgensen et al., 1998) in bovine con ipocalcemia subclinica e clinica. Questa riduzione della motilità ruminale e abomasale causerà probabilmente una riduzione dell'assunzione di mangime. Ciò è particolarmente importante nelle vacche da latte ad alta produzione che devono soddisfare i loro bisogni metabolici mangiando quantità elevate ma la limitazione fisica dell'assunzione di mangime risulta quasi sempre significativa. Inoltre, Goff (2003) ha indicato che una bassa concentrazione plasmatica di Ca intorno al parto si tradurrà in una ridotta motilità e forza delle contrazioni abomasali e quindi atonia abomasale e distensione dell'abomaso. L'ipocalcemia riduce la contrazione dell'abomaso, facendo sì che l'abomaso si riempia di gas e si sposti (naturalmente la mancanza di fibra efficace è un ulteriore fattore che contribuisce a tale spostamento, motivo per cui vi è l'attuale tendenza verso diete ravvicinate ad alto contenuto di paglia);
- 7) **Chetosi:** vacche diagnosticate in ipocalcemia subclinica hanno probabilità 5,5 volte maggiori di sviluppare chetosi rispetto alle vacche normocalcemiche, indipendentemente dal numero di parti (Curtis et al., 1983). L'aumento del rischio di chetosi è probabilmente legato ad alterazioni del metabolismo del glucosio. Inoltre, l'effetto

dell'ipocalcemia subclinica sulla motilità ruminale, che può durare per la prima settimana di lattazione (Goff, 1996), può ben aggravare il bilancio energetico negativo nelle bovine che sono già denutrite. Considerando quest'ultimo fenomeno, non sorprende che sia stata segnalata una maggiore probabilità di insorgenza di chetosi in seguito a febbre da latte (Houe et al., 2001);

- 8) Sviluppo di **malattie infettive e calo della produttività** (Chapinal et al., 2012).

Pertanto, ci sono diversi rapporti in letteratura che collegano l'ipocalcemia subclinica con complicazioni che si verificano durante o intorno al parto ed è difficile pensare a qualsiasi altro fattore associato a “cascata” a così tante complicanze ed eventi economicamente importanti dei bovini da latte. Tuttavia, è molto probabile che i veterinari aziendali affrontino i continui problemi di ritenzione placentare e scarsa fertilità senza considerare la febbre da latte e l'ipocalcemia subclinica come possibili fattori predisponenti. I rapporti di cui sopra sottolineano quindi la necessità di buone misure di controllo e la necessità di un efficace programma di prevenzione, soprattutto considerando che queste complicazioni al parto si traducono spesso in una minore efficienza riproduttiva e in tassi di abbattimento più elevati nelle mandrie da latte.

5.4. Strategie di controllo dell'ipocalcemia

La prevenzione di questo fenomeno si basa su diverse strategie essenziali da mettere in atto e dovrebbe essere identificata la strategia specifica per il controllo dell'ipocalcemia nella singola azienda a partire da analisi a campione della mandria. L'analisi dovrebbe basarsi non solo su un ridotto apporto di Ca nel periodo prima del parto (8,5-10 g/kg di sostanza secca), ma anche su uno specifico profilo elettrolitico nel periodo di asciutta, sul DCAD, sulla supplementazione di vitamina D e sul controllo della concentrazione plasmatica di magnesio (Goff 2006, 2014).

La prevenzione della febbre da latte e dell'ipocalcemia subclinica si può stilare in vari punti:

- 1) **Gestione del punteggio di condizione corporea (BCS):** è stato riportato che le vacche da latte con un punteggio eccessivamente alto al momento del parto hanno fino a quattro volte più probabilità di sviluppare febbre da latte (Ostergaard et al., 2003). Sono state suggerite diverse ipotesi per spiegare questo effetto: in primo luogo, è stato suggerito che le vacche da latte con BCS più elevato al parto abbiano una maggiore secrezione di Ca nel latte, il che le rende più inclini alla patologia. Inoltre, è ampiamente riconosciuto che le vacche da latte con un alto BCS presentino un'assunzione di mangime ridotta nell'ultima settimana prima del parto. Ciò può ridurre la loro assunzione di Ca e Mg a livelli tali da predisporle allo sviluppo di ipocalcemia. Sono in corso diversi studi per comprendere se le vacche da latte con un alto BCS siano in grado di produrre quantità sufficienti della forma attiva della vitamina D3 per prevenire l'ipocalcemia nonostante la steatosi epatica in atto. Viene suggerito in letteratura un

obiettivo target di BCS al parto di 3,0 e il BCS di tutte le vacche dovrebbe essere valutato al parto e alla messa in asciutta;

2) **Integrazione di magnesio:** garantire un'adeguata integrazione di magnesio è vitale dato che, come descritto nei capitoli precedenti, il magnesio (Mg) svolge un ruolo molto importante nel metabolismo del Ca essendo un intermedio chiave nel riassorbimento di Ca dall'osso. In una recente *review*, l'aumento dell'integrazione di Mg ha dimostrato di avere la maggiore influenza tra le strategie dietetiche per la prevenzione della febbre da latte (Lean et al., 2006). Pertanto, la concentrazione dietetica di Mg dovrebbe essere nella regione dello 0,4% di sostanza secca (DM) (Goff, 2004; Lean et al., 2006). Lean et al. (2006) hanno riferito che l'aumento dell'integrazione di Mg dallo 0,3 allo 0,4% del DM della dieta ha ridotto l'incidenza della febbre da latte del 62%. Si ricorda infine che un'alta concentrazione di N e K nella dieta ridurranno l'assorbimento di Mg dall'intestino;

3) **DCAD e potassio:** il concetto di equilibrio alimentare di cationi e anioni ha focalizzato l'attenzione sul livello di potassio contenuto nel mangime di vacche da latte al parto. È ormai ampiamente riconosciuto che i meccanismi omeostatici che determinano la prevenzione della febbre da latte funzionano in modo più efficiente quando il DCAD è negativo. La strategia più comune impiegata per ottenere questo effetto è l'aggiunta di sali anionici alla dieta dei bovini prima del parto (Goff, 2004). Goff ha affermato che è molto difficile controllare l'ipocalcemia se la razione totale di K è $>1,8\%$ per cui è meglio testare il foraggio per il K se si utilizza questa strategia. Il monitoraggio del pH delle urine è inoltre estremamente utile per determinare se è stata raggiunta un'acidificazione ottimale della dieta (Oetzel, 2004) e sfruttato come indicatore di efficacia della gestione. Tuttavia, va

ribadito che il pH delle urine non indica una riduzione del rischio di ipocalcemia. È anche importante affermare che anche se non si utilizza una rigorosa strategia DCAD per la prevenzione della febbre da latte, la riduzione del K nella dieta è vantaggiosa per la prevenzione della febbre da latte in tutte le circostanze (Lean et al., 2006). Ciò è probabilmente correlato alla riduzione segnalata dell'incidenza della patologia riducendo il DCAD anche se il DCAD non diventa effettivamente negativo (Lean et al., 2006) e alla capacità del K di impedire l'assorbimento di Mg dal tratto gastrointestinale;

- 4) **Restrizione di Ca:** una delle strategie classiche spesso proposte per la prevenzione della febbre da latte è la restrizione dell'assunzione di Ca prima del parto. Ciò ha l'effetto di garantire che l'ormone paratiroideo e la forma attiva della vitamina D3 siano presenti in concentrazioni più elevate in circolazione il giorno del parto quando l'esportazione di Ca nel colostro aumenta improvvisamente. Le bovine alimentate con diete a basso contenuto di Ca nel periodo di asciutta, infatti, mostrano un'aumentata mobilizzazione di Ca dalle ossa, un miglior assorbimento intestinale e un'aumentata ritenzione renale (Hernández-Castellano et al., 2019);
- 5) **Fonti orali di calcio:** il Ca integrato per via orale dopo il parto (non parte della dieta) ha mostrato una risposta positiva per prevenire un calo della concentrazione di Ca nel sangue. Molti integratori orali vengono assorbiti entro pochi minuti dalla somministrazione e l'integrazione è spesso sotto forma di cloruro di Ca in forma di gel o pasta. Più recentemente, un bolo solido ricoperto di grasso contenente cloruro di Ca e solfato di Ca è stato testato (due dosi nel post-parto) e trovato efficace nell'aumentare la concentrazione di Ca nel sangue.

6. CAPITOLO SESTO: CONTRIBUTO SPERIMENTALE

6.1. Introduzione

L'analisi delle urine è uno degli strumenti diagnostici più utili per monitorare la salute degli animali ed è una metodologia rapida, economica e facilmente disponibile nella pratica di routine. Oltre ad essere un componente essenziale nella diagnosi delle malattie urogenitali, è anche uno strumento importante nella diagnosi delle malattie renali, epatiche e metaboliche e viene considerato un valido strumento di valutazione della fisiopatologia del sistema immunitario ed endocrino. A differenza del sangue che funge solo da liquido di latenza e non influenza la concentrazione di elettroliti ma semplicemente li trasporta, il rene sano risponde all'esigenze dell'organismo di omeostasi.

Un'attenta analisi delle urine risulta essere fondamentale per controllare lo scambio di fluidi extra ed intracellulare, valutare il livello di idratazione e di elettroliti dell'organismo, l'assorbimento macromineraie nell'intestino ed evidenziare l'equilibrio acido-base attraverso l'escrezione o il riassorbimento degli elettroliti. Ricercare eventuali squilibri minerali e diagnosticare patologie ad essi correlate non può prescindere da un accurato studio della concentrazione dei macrominerali nelle urine: il presente lavoro, inquadrabile nella categoria del "*case report*", ha pertanto lo scopo di studiare il profilo minerale delle urine come funzione dell'apporto alimentare di minerali in un gruppo di bovine allevate presso un allevamento commerciale. Più in particolare, si vuole verificare la possibilità di utilizzare il profilo minerale urinario per studiare l'omeostasi e lo stato metabolico degli animali al fine di adeguare l'apporto minerale dietetico in base al reale assorbimento da parte degli stessi. In base all'attuale comprensione

dell'omeostasi del calcio nelle vacche da latte periparto, la misurazione della concentrazione urinaria di Ca sembra fornire il metodo migliore per valutare l'efficienza dell'alimentazione con una razione acidogenica (Grünberg et al., 2011; Martin-Tereso e Verstegen, 2011; Megahed et al., 2018) e i *dipstick* urinari permettono la misurazione del pH urinario per monitorare il grado di ipercalciuria e acidificazione sistemica durante la somministrazione di razioni acidogene (Constable et al., 2009). Per un controllo ottimale dell'ipocalcemia peripartum nelle vacche Frisone preparto si suggerisce un pH medio della mandria compreso tra i 6,0-6,8. Al contrario, pH >8.25 a 48 ore prima del parto indica un aumento del rischio di decubito nelle vacche da latte nel periparto (Seifi et al., 2004). La semplice misura del pH delle urine risulta però essere un metodo semplice ma incompleto poiché quest'ultimo varia in funzione di tutta la quota anionica e cationica disciolta nelle urine ma non permette una valutazione del profilo completo degli elettroliti che vanno quindi presi in esame singolarmente. Tramite analisi di laboratorio sulle urine si può al contrario valutare lo stato specifico di mineralizzazione della vacca, far emergere rischi di patologie di origine secondaria del periparto (metriti, mastiti, chetosi, dislocazioni etc.) e considerarne lo stato di acidosi o alcalosi metabolica. Disturbi di gruppo come bassa produzione, ridotta ingestione, aumento di avanzzi della razione, edema della mammella e prolasso uterino riflettono anch'essi gli squilibri dei minerali nella dieta. L'urina rappresenta quindi un riflesso dei livelli minerali e dell'equilibrio acido-base dell'organismo e permette inoltre di leggere l'attività del rene coinvolto nella stabilizzazione e mantenimento dell'omeostasi minerale (attraverso la filtrazione, il riassorbimento e l'escrezione di minerali nelle urine) e del bilancio acido-base.

6.2. Materiali e metodi

6.2.1. Allevamento, mandria e razionamento

L'azienda presso la quale è stato condotto lo studio è la “*Società agricola Cascina Sei Ore S.r.l.*” che rientra nel comune di Remedello di Sotto, situato in provincia di Brescia, zona vocata per la produzione di latte (fig. 7). Si estende su una superficie di 250 ettari di seminativi dove tutto il prodotto coltivato nei campi è destinato alla trasformazione in foraggi che vengono poi utilizzati internamente all'azienda per alimentazione della mandria. L'allevamento si compone di cinque capannoni a stabulazione libera per l'allevamento del bestiame e di un impianto per la produzione di biogas. I capi totali in stalla sono 1250 e in mungitura risultano attualmente 430 bovine di sola razza Frisona che vantano una produzione circa di 55.000 quintali di latte annuo destinato alla trasformazione casearia in Grana Padano. Il sistema di alimentazione è di tipo “*unifeed*”. Da sottolineare il grande lavoro svolto negli ultimi venti anni nella selezione genetica da parte della proprietà al fine di incentivare la fertilità degli animali utilizzando seme sessato.

Figura 7. Cartina fisica di Remedello di Sotto (BS)



Per quanto riguarda la gestione dell'asciutta le bovine che soddisfano determinati parametri quali un BCS compreso tra 3,0-3,5 e non presentano gravidanza gemellare vengono asciugate 60 giorni prima della data presunta del parto; seguono quindi le fasi di asciugatura, far-off e steaming-up (quest'ultimo viene svolto in un paddock separato rispetto alle fasi precedenti). Subito dopo il parto le bovine vengono spostate dalla sala parto al gruppo delle vacche fresche dove vengono munte per ottenere il colostro. Rimangono in tale gruppo fino al primo controllo del veterinario aziendale che viene effettuato settimanalmente. In particolare, durante la visita, si procede alla diagnosi di eventuali problematiche quali ritenzione di placenta, metrite (secrezione uterina fetida acquosa di colore rosso-marrone), endometrite clinica (perdite uterine purulente) e/o prollasso uterino. Viene inoltre misurata a intervalli di 1-2 giorni la temperatura rettale. In questa azienda si cerca di limitare l'utilizzo di antibiotici ai casi più gravi o a quelli in cui la terapia antibiotica risulta indispensabile.

Circa lo stato sanitario della mandria, all'inizio dell'anno 2022 il capostalla ha segnalato evidenti segni di ipocalcemia nel post-parto, quali tremore degli arti posteriori, episodi di vacche a terra e cali di latte improvvisi in lattazione. Questo ha portato allo sviluppo progettuale del presente studio. La ricerca si è svolta tra febbraio 2022 e giugno 2022 sia per quanto riguarda la raccolta e il campionamento della razione sia in relazione all'analisi delle urine delle vacche-campione scelte. Il prelievo e la prima analisi di *screening* sono stati effettuati in data 04/02/2022 e in data 17/06/2022 è avvenuta la seconda analisi di controllo su *unifeed* e urine.

Di seguito sono riportate le composizioni delle razioni nel *close-up* come somministrate nelle suddette date:

Tabella 4. *Composizione chimica della razione preparato febbraio '22*

- Ingrediente	Quantità (kg)
Soia 43%	1,5
Miscuglio fieno	1,8
Integratore minerale vitaminico	0,3
Paglia frumento	2,0
Carro <i>unifed</i> lattazione	7,5
Silofrumento trincea	11
Acqua	3,0
- Nutriente	SS %
Zuccheri	4,28
Amidi	9,63
PG	14,85
aNDFom	50,00
NFC	24,16
EE	2,58

La razione soddisfa i fabbisogni delle vacche nel periodo considerato: la razione fibrosa per le vacche in asciutta mantiene il volume ruminale stimolando la ruminazione, il livello energetico è soddisfacente per mantenere un BCS corretto e il livello proteico soddisfa i fabbisogni.

Tabella 5. *Composizione chimica della razione postparto febbraio '22*

- Ingrediente	Quantità (kg)
Fieno medica	1,5
Prato fasciato	1,0
Miscuglio fieno	0,5
Miscuglio fasciato	0,5
Soia farina estrazione	3,0
Girasole proteico	1,3
Mais farina	2,8
Silofrumento	5,0
Mais pastone intero trincea	5,0
Silosorgo	5,0
Silomais	20
Integratore minerale/vitaminico	0,5
Mangime complementare liquido	1,1
Acqua	2,0
- Nutriente	SS %
Zuccheri	5,80
Amidi	25,80
PG	15,00
aNDFom	32,51
EE	2,72

La razione soddisfa i fabbisogni delle vacche nel periodo considerato: la razione per le vacche in lattazione mantiene il volume ruminale stimolando la ruminazione, il livello energetico è soddisfacente per mantenere un BCS corretto e la produzione di latte e il livello proteico soddisfa i fabbisogni. L'ingestione di SS corrisponde a quella prevista.

Tabella 6. Composizione chimica della razione preparato giugno '22

- Ingrediente	Quantità (kg)
Soia 43%	1,5
Miscuglio fieno	1,4
Integratore minerale/vitaminico	0,3
Paglia frumento	2,0
Carro <i>unifeed</i> lattazione	7,5
Silofrumento trincea	13
Mais farina 64%	0,3
Acqua	2,0
- Nutriente	SS %
Zuccheri	6,01
Amidi	11,30
PG	14,30
aNDFom	49,39
NFC	25,51
EE	2,81

Rimane invariato l'apporto nel preparato adattato alle caratteristiche dei nuovi foraggi. Da notare l'aggiunta di mais farina.

Tabella 7. Composizione chimica della razione postparto giugno '22

- Ingrediente	Quantità (kg)
Fieno medica	1,7
Miscuglio fasciato	0,4
Miscuglio fieno	0,4
Soia farina estrazione	2,7
Girasole proteico	1,0
Mais farina	4,3
Silofrumento trincea	5,0
Mais pastone intero trincea	2,0
Silosorgo	4,0
Silomais	20
Integratore minerale/vitaminico	0,5
Mangime complementare liquido	1,1
Acqua	3,0
- Nutriente	SS %
Zuccheri	5,77
Amidi	26,84
PG	26,84
aNDFom	31,82
EE	2,87

Rimane invariato l'apporto nel postparto adattato alle caratteristiche dei nuovi foraggi.

6.2.2. Criteri di scelta e protocollo di campionamento

Prima di illustrare il protocollo di campionamento degli animali in azienda, è importante sottolineare i criteri seguiti nella selezione di tali animali: il giorno del prelievo, le vacche selezionate dovevano risultare apparentemente sane, con un BCS pari a 3-3,5, feci normali, prive di problemi podali apparenti e di mastite. L'esclusione di animali con patologie risulta fondamentale per una comprensione ottimale dei risultati analitici, che verrebbero compromessi in caso di patologia. Sono stati esclusi quindi animali con recenti problemi metabolici/sanitari (ipocalcemia, chetosi, metrite, ritenzione di placenta etc.).

Oltre allo stato di salute degli animali, all'interno di ogni gruppo sono stati individuati dei criteri in merito all'intervallo temporale rispetto al parto in cui effettuare i prelievi. Di seguito si riportano i criteri seguiti:

- Le vacche in asciutta dovevano essere prelevate dopo almeno 7-8 giorni dalla messa in asciutta;
- Le vacche nel preparto dovevano essere prelevate tra -15 e -3 giorni prima del parto;
- Le vacche nel post-parto dovevano essere prelevate tra +2 e +10 giorni dopo il parto.

Sono state campionate 42 bovine di sola razza Frisona suddivise nel seguente ordine:

Tabella 8. Schema campionamento - 04/02/2022

Campionamento screening 04/02/2022	ASCIUTTA	CLOSE- UP	POST- PARTO	TOTALI
N° campioni urine				
- Primipare	0	5	3	8
- Pluripare	5	1	2	8

-

Aggiustamento razione

-

Tabella 9. Schema campionamento - 17/06/2022

Campionamento finale 17/06/2022	ASCIUTTA	CLOSE- UP	POST- PARTO	TOTALI
N° campioni urine				
Primipare	0	4	4	8
Pluripare	5	9	4	18

6.2.3. Metodo di prelievo e analisi

L'urina è stata ottenuta mediante stimolazione manuale perineale, durante la minzione volontaria libera o, qualora necessario, con l'utilizzo di cateteri di plastica di 0,5cm di diametro e 40cm di lunghezza (*Bardex Foley®*) inseriti nella vescica della vacca e tenuti in posizione da un palloncino da 50 ml. Il metodo con cui il catetere viene inserito nella vescica per la raccolta consta, successivamente alla disinfezione della vagina, nel posizionamento dell'indice guantato nel diverticolo sub-uretrale esterno, identificabile al di sopra del fondo cieco uretrale che si trova nella porzione più ventrale del vestibolo della vagina e al di sotto del pavimento vaginale; successivamente si provvede all'inserimento al di sopra del dito del catetere che viene fatto scorrere all'interno dell'uretra fino al raggiungimento della vescica; a questo punto l'urina potrà, aspirando se necessario, defluire liberamente dalla vescica grazie all'applicazione di una siringa sterile all'estremità esterna del catetere. I cateteri sono stati collegati alle provette di vetro trasparente *Vacutest* da 9 ml utilizzate per le analisi che son state chiuse immediatamente post-riempimento per ridurre al minimo l'esposizione all'aria. La cateterizzazione è avvenuta sempre dopo accurato lavaggio, utilizzando una siringa da 20 ml (*Injekt*) e un catetere sterile. Si sottolinea che il pH delle urine è stato misurato al momento del prelievo (entro 10min) tramite l'impiego di *sticks*, pratico strumento con alta affidabilità.

Una volta effettuati i prelievi i campioni sono stati refrigerati a 4°C senza l'aggiunta di alcun conservante e trasportati nell'immediato al laboratorio di analisi autorizzato ARA di Crema, dove sono stati analizzati mediante metodo interno con cromatografo. L'analisi è stata effettuata entro due ore dall'arrivo dei campioni senza centrifugazione preliminare.

Durante le visite aziendali, in concomitanza con i prelievi di urine, sono stati inoltre raccolti i campioni di unifeed per gruppo di animali: due aliquote composte da circa 500g ottenute da 10 sotto campioni raccolti in diversi punti della mangiatoia e poi mescolati sono stati creati appena successivamente allo scarico formando i due campioni finali. Sono stati inoltre visionati e raccolti i cartellini dei mangimi e degli integratori utilizzati in azienda. Il calcolo per misurare l'ingestione di SS è stato effettuato per differenza fra l'unifeed scaricato ed i residui del giorno precedente.

L'analisi del rischio considera la percentuale di animali che si trovano al di sotto del valore minimo di riferimento, al range dei valori di riferimento e al di sopra del valore massimo. È stata effettuata attraverso un modello di calcolo sviluppato da specialisti del settore e implementato attraverso il software Microsoft Excel (2007).

6.3. Risultati e discussione

6.3.1. Risultati analisi dell'unifeed: febbraio e giugno a confronto

Tabella 10. Apporti capo/g macrominerali in grammi - analisi unifeed - preparto

	Preparto febbraio	Preparto giugno
Calcio	126,00	119,00
Fosfati	70,00	98,00
Magnesio	35,00	49,00
Sodio	12,25	24,50
Potassio	264,25	241,50
Cloruri	89,25	106,75
Solfati	28,00	33,25

La quota di calcio somministrata con la dieta a febbraio era pari a 126g/capo/g. Tale dose era giustificata in parte dalla introduzione nella razione di sali anionici del calcio utilizzati per favorire il metabolismo dello stesso elemento. Nel post-parto è stato utilizzato anche il solfato di calcio in parziale sostituzione del cloruro come fonte di calcio solubile.

Confrontando gli apporti minerali con le raccomandazioni del NASEM (2021) è possibile osservare come gli stessi siano risultati più equilibrati in seguito alla correzione dell'integrazione minerale grazie, inoltre, all'introduzione di solfati di natura diversa in miscela tra loro. Tali variazioni hanno contribuito verosimilmente alla prevenzione di patologie connesse a squilibri macrominerali, calcio in primis, nonché ai deficit del sistema immunitario che ne seguono.

Tabella 11. Aggiustamenti razione Close-up

	Preparto	Postparto
Calcio e Cloro	Miscela di solfato di Na, Mg e Ca 50g/capo Cloruro di calcio 50g/capo	Miscela di solfato di Na, Mg e Ca 50g/capo Cloruro di calcio 50g/capo Boli di calcio il gg del parto
Potassio	-	Boli di potassio il gg del parto + 80g carbonato di K ⁺

Da notare in *tabella 11* l'aggiustamento sia delle quantità dei macrominerali che delle fonti dei macrominerali, i quali come già menzionato, migliorano l'efficacia e la biodisponibilità dell'apporto minerale. Il giorno del parto sono stati inoltre raccomandati boli di potassio che influenza l'ingestione degli animali, data la carenza di tale minerale riscontrata in precedenza nella stessa fase.

Tabella 12. *Apporti capo/g macrominerali - analisi unifeed - postparto*

	Postparto febbraio	Postparto giugno
Calcio	190,40	166,47
Fosfati	89,60	104,72
Magnesio	44,80	53,70
Sodio	53,20	18,80
Potassio	352,80	383,96
Cloruri	114,80	110,09
Solfati	44,80	51,02

Anche nel postparto l'aggiustamento della razione a seguito del primo campionamento preliminare ha apportato diverse modifiche nell'apporto giornaliero di macrominerali: l'apporto di calcio è risultato diminuito ma la fonte diversa con cui è stato somministrato ha permesso un aumento della relativa escrezione nelle urine (*tab. 14*) a dimostrazione del miglioramento della biodisponibilità e di conseguenza dell'assorbimento da parte dell'animale.

6.3.2. Risultati analisi delle urine: febbraio e giugno a confronto

Tabella 13. Risultati medi analisi delle urine nel parto

Parametri	Medie febbraio (mmol/l)	Medie giugno (mmol/l)	Variazione relativa
pH	7,96	8,10	+ 1,76%
<i>- Quota cationica:</i>			
Sodio	40,44	14,28	- 64,69%
Potassio	219,17	175,12	- 20,10%
Magnesio	12,20	15,87	+ 30,08%
Calcio	0,25	3,81	+ 1424,00%
Ammonio	5,36	2,62	- 51,12%
<i>- Quota anionica:</i>			
Cloruri	63,88	50,06	- 21,63%
Nitrati	0,16	14,61	+ 9031,25%
Solfati	24,24	9,13	- 62,33%
Fosfati	0,32	0,11	- 65,63%

Nella *tabella 13* si riportano le medie dei risultati delle analisi delle urine relativamente ai macrominerali e metaboliti dell'azoto nelle vacche in parto effettuate in febbraio e in giugno con la rispettiva variazione relativa a seguito dell'intervento sulla razione. Nello studio preliminare effettuato in febbraio sono stati registrati bassi livelli delle concentrazioni di calcio e magnesio escreti con le urine nelle vacche prima del parto a indicare uno

scompenso nell'omeostasi minerale che mette a rischio l'animale per le patologie del post-parto, ipocalcemia in primis. La massiccia variazione del sodio è dovuta alla sostituzione di cloruro di sodio attraverso l'incremento del cloruro di calcio già presente in minor quantità prima dell'intervento correttivo. Da notare in particolare come l'intervento effettuato si sia concretizzato più in una variazione delle fonti di macrominerali che del loro apporto quantitativo con una conseguente variazione della biodisponibilità: efficace è stato il cambio per quanto riguarda il calcio e il magnesio che sono saliti ad un livello ottimale, tale da prevenire l'insorgere di patologie metaboliche quali la *milk fever* e l'ipocalcemia. Osservando i valori circa la variazione relativa è evidente come si sia passati da una condizione di bassa escrezione per diversi macrominerali a una situazione ottimale: l'aggiunta di cloruro di calcio idrato ha permesso un aumento del calcio pari al 1424% e un calo del sodio in eccesso (di circa 1/3). La sostituzione di ossido di magnesio con cloruro di magnesio ha determinato un innalzamento dei livelli di Mg urinario.

La discreta variazione del potassio e dei nitrati è dovuta con ogni probabilità alla variazione della partita di foraggi utilizzata e non all'integrazione minerale. Tale evenienza è piuttosto comune nella zona in cui è insediato l'allevamento oggetto di studio a causa della tendenza a una massiccia concimazione dei terreni con liquami notoriamente ricchi di azoto. La causa del calo dei solfati e dei fosfati è da ricercare invece in un meccanismo fisiologico: l'aggiunta dei solfati in razione è destinata in buona parte a vantaggio della flora ruminale e quindi del metabolismo energetico della bovina e non al mero assorbimento da parte dell'animale per cui l'escrezione urinaria non risulta variata proporzionalmente all'integrazione come nel caso degli altri macrominerali.

Grafico 1. Analisi del rischio nel *preparto* (febbraio)

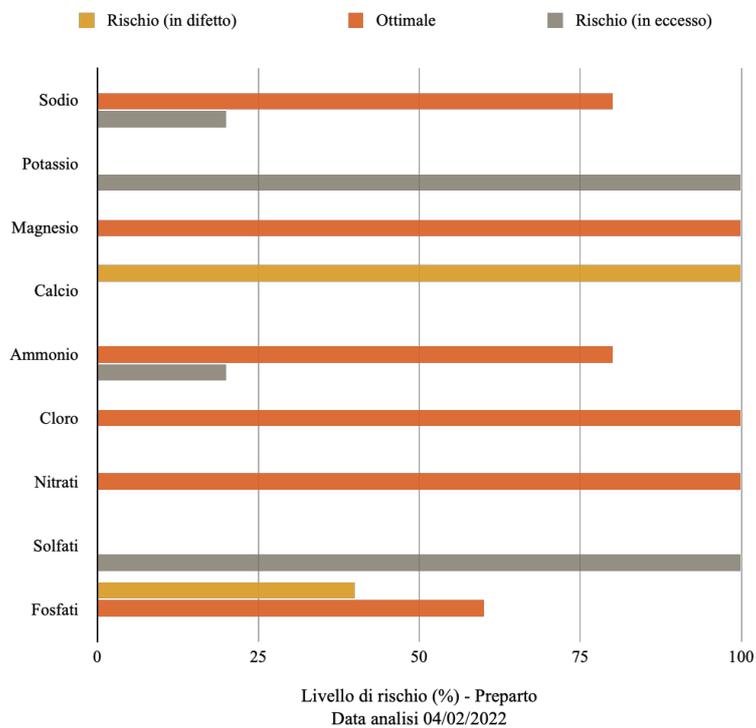
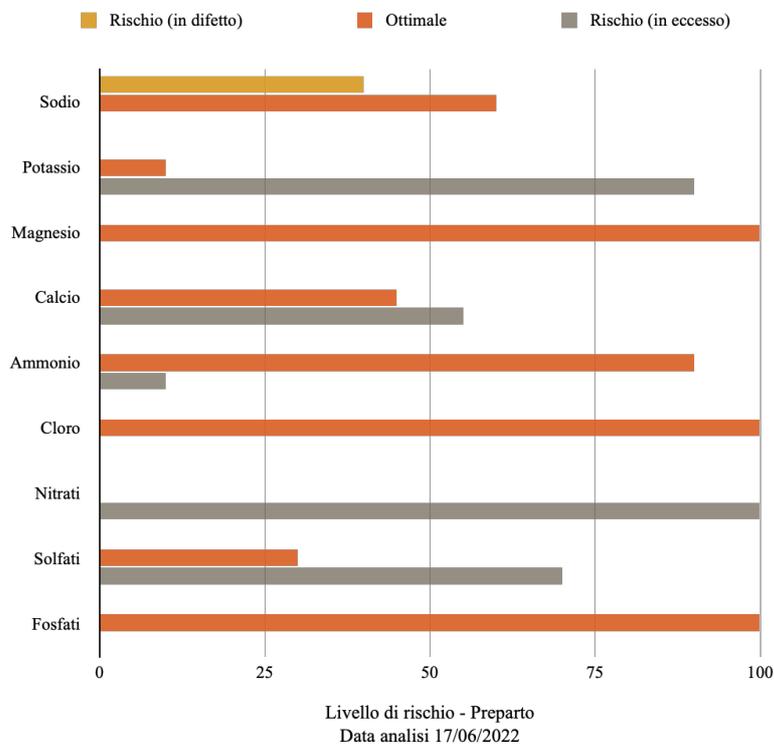


Grafico 2. Analisi del rischio nel *preparto* (giugno)



A conferma dei dati ottenuti riportati nella tabella 13, nei *grafici 1 e 2* rappresentano i livelli di rischio in termini di percentuale di animali tendenzialmente in carenza di macrominerali ovvero in una situazione ottimale oppure a rischio di eccesso nei mesi di febbraio e giugno nella mandria in parto. Risulta evidente un netto miglioramento a seguito dell'intervento sulla razione per quanto riguarda specifici minerali: ad esempio, il calcio passa da una situazione critica dove il 100% degli animali risulta a rischio di deficit netto a una situazione di *target* ottimale o al limite di rischio in eccesso.

Relativamente ai fosfati è evidente come inizialmente fosse presente una certa quota di rischio in eccesso che è scomparsa lasciando spazio solo a situazioni ottimali nel mese di giugno.

Circa il magnesio non sono state registrate situazioni né di carenza né di eccesso ma l'aggiustamento dell'integrazione ha permesso un aumento del suo livello (*tab. 13*) limitando il rischio di *milk fever*.

Tabella 14. Risultati medi analisi delle urine nel postparto

Parametri	Medie febbraio (mmol/l)	Medie giugno (mmol/l)	Variazione relativa
pH	6,92	8,32	+ 20,23%
<i>- Quota cationica:</i>			
Sodio	75,8	54,95	- 27,50%
Potassio	227,45	137,06	- 39,74%
Magnesio	13,11	16,85	+ 28,53%
Calcio	0,25	4,32	+ 1628%
Ammonio	3,49	15,28	+ 337,82%
<i>- Quota anionica:</i>			
Cloruri	14,79	32,69	+ 121,03%
Nitrati	0,16	10,77	+ 6631,25%
Solfati	16,33	8,21	- 49,72%
Fosfati	0,32	0,11	- 65,63%

La *tabella 14* evidenzia i cambiamenti avvenuti nel postparto tra febbraio e giugno a seguito dell'aggiustamento nella razione: l'interesse maggiore è da rivolgere al pH che è notevolmente aumentato, a dimostrazione che da una situazione di acidosi metabolica si è saliti a un valore ottimale per il postparto. Ricordando che si considera fisiologico il pH urinario delle bovine quando presenta valori compresi tra 7,8 e 8,4 (Goff et al., 2004), è importante sottolineare come sia un valore che fornisce un'informazione solamente parziale che va necessariamente affiancato a uno studio del profilo completo

degli elettroliti presenti nelle urine per evitare eventuali squilibri. Da una condizione quindi di acidosi metabolica da riduzione dei bicarbonati ematici, perdita di sostanze tampone e aumento di acidi circolanti (diminuendo la produzione di latte e l'ingestione di SS), i reni hanno risposto all'integrazione minerale espellendo l'eccesso di acidi e favorendo il ripristino di un pH fisiologico.

Come nella situazione precedente le variazioni di sodio, potassio e nitrati sono da imputare alla variazione foraggiera e non all'integrazione minerale in sé.

Parallelamente ai risultati ottenuti nel preparto, anche in questo caso livelli alti di solfati sono indice di un'intensificazione del catabolismo degli amminoacidi solforati finalizzato alla compensazione del bilancio energetico negativo attraverso la neo-glucoinesi, tipico dell'immediato preparto.

I dati raccolti hanno evidenziato inoltre significativi aumenti del magnesio e del calcio che anche in questo caso risultano eclatanti: il rene sano risponde alle esigenze omeostatiche dell'organismo e ciò è individuabile dalla salita dei livelli di calcio e magnesio successiva all'integrazione effettuata sulla razione con un maggior apporto di calcio in un formato più assimilabile.

Grafico 3. Analisi del rischio nel postparto (febbraio)

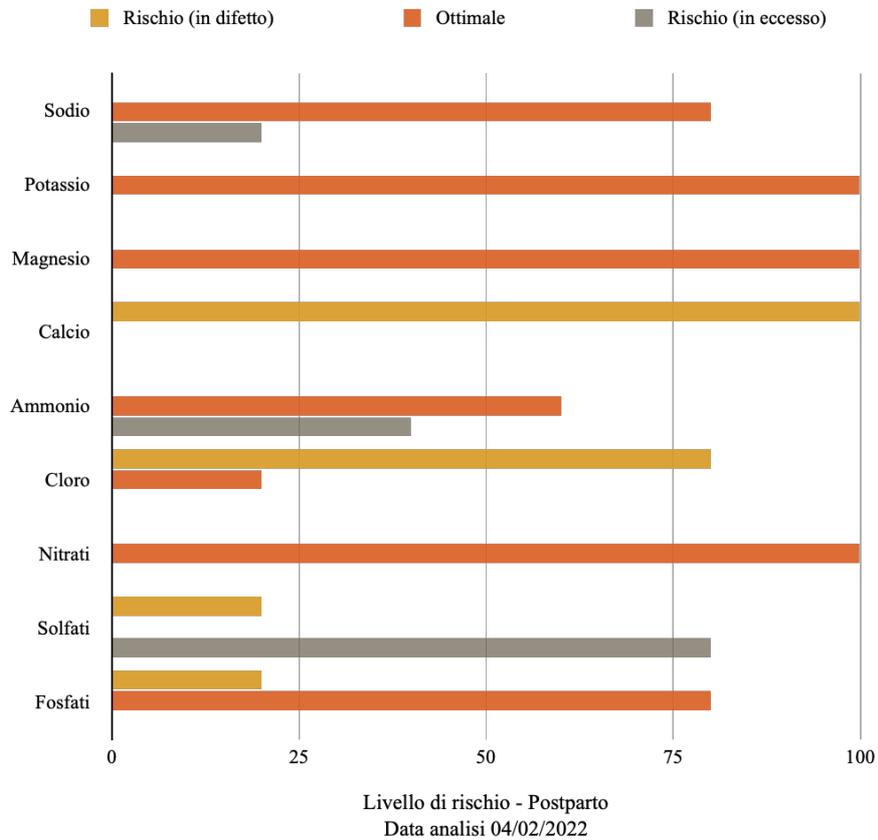
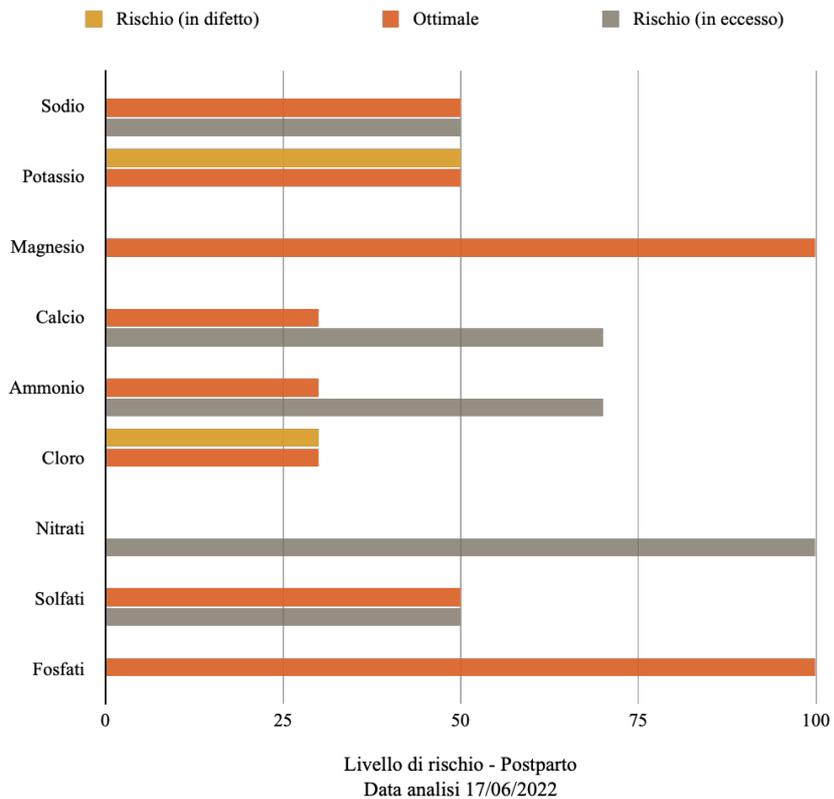


Grafico 4. Analisi del rischio nel postparto (giugno)



Il livello di rischio nel postparto viene rappresentato nei *grafici 3 e 4* dove si evidenzia la percentuale di animali che hanno partorito in difetto di calcio. Tale valore era pari al 100% nel mese di febbraio mentre in giugno si è passati a una condizione ottimale/di eccesso che favorirà la qualità del colostro e la qualità casearia del latte. Tale variazione della percentuale di rischio va a discapito di una condizione che presenta il rischio di ipocalcemia clinica o subclinica e delle patologie che ne conseguono.

Di pari passo ai risultati precedenti, circa il magnesio non sono state registrate situazioni né di carenza né di eccesso ma l'aggiustamento dell'integrazione ha permesso un aumento del suo livello (*tab. 14*) limitando il rischio di *milk fever*.

Come studiato nel preparto i fosfati passano per una certa percentuale di animali a rischio a una situazione ottimale nel mese di giugno.

CONCLUSIONI

A seguito di una particolare analisi del contenuto minerale presente nelle razioni e nelle urine escrete di bovine da latte nel periodo del parto questo studio indaga come un'attenta analisi delle variazioni tra gli apporti e i fabbisogni dei principali macroelementi possa condurre a una gestione di successo di questo difficile periodo dando un significativo contributo alla prevenzione delle patologie post-parto.

Dal presente studio emerge come un efficiente controllo della razione e della relativa integrazione minerale sia imprescindibile per limitare l'insorgere di patologie cliniche o subcliniche che conducono a una perdita economica data da scarse performance degli animali. Conoscere il rischio a cui sono esposte le bovine e monitorare tramite l'analisi del profilo macromin minerale delle urine permette quindi di avere una rappresentazione dinamica della reale situazione minerale della mandria.

Come hanno dimostrato i risultati ottenuti in questa prova, la razione può essere controllata e aggiustata in base a carenze o eccessi dedotte all'analisi delle urine e a partire dal valore del pH delle stesse. Conoscendo le criticità del periodo di transizione, questo può rappresentare un grande aiuto nei confronti delle bovine, mantenendole in uno stato di omeostasi minerale ed evitando di creare interazioni sfavorevoli tra i vari macroelementi che inficiano la salute e produttività delle stesse. Le urine sono quindi il risultato del funzionamento ormonale messo in atto dall'organismo e offrono una valutazione dinamica di quello che sta realmente accadendo all'interno della bovina.

Un suggerimento per uno studio più approfondito potrebbe essere indirizzato verso l'implementazione di analisi sul latte, sulle feci e sull'acqua di bevanda con un set di dati più ampi tali da poter consentire la creazione di un'equazione più completa più completa per la stima del bilancio minerale in termini di input e output. Interessante sarebbe investigare con ulteriori indagini l'output ottenibile con modifiche sulle fonti minerali a seguito di un'analisi del contenuto urinario al fine di valutarne la biodisponibilità delle fonti minerali.

BIBLIOGRAFIA

- Abdisa, T.** 2018. Examination of urine. *International Journal of Veterinary Science and Research* 051–058. doi:10.17352/ijvsr. s1.107.
- Block, E.** 1984. Manipulating dietary anions and cations for prepartum dairy cows to reduce incidence of milk fever. *J. Dairy Sci.* 67:2939–2948.
- Bohstedt, G.** 1942. Minerals in Dairy Cattle Nutrition: A Review. *J Dairy Sci* 25:441–458. doi:10.3168/jds. S0022-0302(42)95312-8.
- Caixeta, L. S., P. A. Ospina, M. B. Capel, and D. V. Nydam.** 2015. The association of subclinical hypocalcemia, negative energy balance and disease with bodyweight change during the first 30 days post-partum in dairy cows milked with automatic milking systems. *Vet. J.* 204:150–156
- Caixeta, L.S., P.A. Ospina, M.B. Capel, and D. v. Nydam.** 2017. Association between subclinical hypocalcemia in the first 3 days of lactation and reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology* 94:1–7. doi: 10.1016/j.theriogenology.2017.01.039.
- Chapinal, N., M. E. Carson, S. J. LeBlanc, K. E. Leslie, S. Godden, M. Capel, J. E. P. Santos, M. W. Overton, and T. F. Duffield.** 2012. The association of serum metabolites in the transition period with milk production and early-lactation reproductive performance. *J. Dairy Sci.* 95:1301–1309.
- Constable, P.D.,** 1997. A simplified strong ion model for acid-base equilibria: application to horse plasma. *Journal of Applied Physiology* 83, 297–311.
- Constable, P.D.,** 1999. Clinical assessment of acid–base status: strong ion difference theory. *The Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 15, 447–471.

- Cunningham, H.M., G.L. Frederick, and G.J. Brisson.** 1955. Application of an Inflatable Urethral Catheter for Urine Collection from Cows. *J Dairy Sci* 38:997–999. doi:10.3168/jds. S0022-0302(55)95068-2.
- Curtis, C.R., H.N. Erb, C.J. Sniffen, R.D. Smith, P.A. Powers, M.C. Smith, M.E. White, R.B. Hillman, and E.J. Pearson.** 1983. Association of parturient hypocalcemia with eight periparturient disorders in Holstein cows. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 183:559- 561.
- DeGaris, P.J., and I.J. Lean.** 2008. Milk fever in dairy cows: A review of pathophysiology and control principles. *Veterinary Journal* 176:58–69. doi: 10.1016/j.tvjl.2007.12.029.
- DeGroot, M. A., E. Block, and P. D. French.** 2010. Effect of prepartum anionic supplementation on periparturient feed intake, health, and milk production. *J. Dairy Sci.* 93:5268–5279.
- Dishington, I. W.** 1975. Prevention of milk fever (hypocalcaemia paresis puerperalis) by dietary salt supplements. *Acta Vet. Scand.* 16:503–512.
- Drackley, J. K.** 1999. Biology of dairy cows during the transition period: The final frontier? *J. Dairy Sci.* 82:2259–2273.
- Drackley, J. K., and F. C. Cardoso.** 2014. Prepartum and postpartum nutritional management to optimize fertility in high-yielding dairy cows in confined TMR systems. *Animal* 8(Suppl 1):5–14.
- Drackley, J.K.** 1999. ADSA foundation scholar award: Biology of dairy cows during the transition period: The final frontier. *J Dairy Sci* 82:2259–2273. doi:10.3168/jds. s0022-0302(99)75474-3.
- Fagnani, R., V. Beloti, and A.P.P. Battaglini.** 2014. Acid-base balance of dairy cows and its relationship with alcoholic stability and mineral composition of milk. *Pesquisa Veterinaria Brasileira* 34:398–402.

- Goff, J.P.**, 1999. Treatment of calcium, phosphorus and magnesium balance disorders. *The Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 15, 619–639.
- Goff, J.P., Horst, R.L., Beitz, D.C., Littledike, E.T.**, 1988. Use of 24-F-1, 25-dihydroxyvitamin D₃ to prevent parturient paresis in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 71, 1211–1219.
- Goff, J.P., Horst, R.L., Mueller, F.J., Miller, J.K., Kiess, G.A., Dowlen, H.H.**, 1991. Addition of chloride to a prepartal diet high in cations increases 1,25-dihydroxyvitamin D response to hypocalcemia preventing milk fever. *Journal of Dairy Science* 74, 3863–3871.
- Goff, J.P., Ruiz, R., Horst, R.L.**, 2004. Relative acidifying activity of anionic salts commonly used to prevent milk fever. *Journal of Dairy Science* 87, 1245–1255.
- Goff J.P.** 2000. Pathophysiology of calcium and phosphorus disorders. *Veterinary clinics of North America: food animal practice* 16.
- Goff, J.P.** 2006. Macromineral physiology and application to the feeding of the dairy cow for prevention of milk fever and other periparturient mineral disorders. *Anim Feed Sci Technol* 126:237–257.
- Grant, R.J.** 1992. G92-1111 Mineral and Vitamin Nutrition of Dairy Cattle.
- Greger, R.F.** 2000. Physiology and pathophysiology of calcium homeostasis.
- Grunberg W, Donkin SS, Constable PD.** Periparturient effects of feeding a low dietary cation-anion difference diet on acid-base, calcium, and phosphorus homeostasis and on intravenous glucose tolerance test in high-producing dairy cows. *J Dairy Sci.* 2011; 94:727-745
- Herman, N., N. Bourgès-Abella, J.P. Braun, C. Ancel, F. Schelcher, and C. Trumel.** 2019. Urinalysis and determination of the urine protein-to-

creatinine ratio reference interval in healthy cows. *J Vet Intern Med* 33:999–1008. doi:10.1111/jvim.15452.

- Hiew, M. W., A. A. Megahed, J. R. Townsend, W. L. Singleton, and P. D. Constable.** 2016. Clinical utility of calf front hoof circumference and maternal intrapelvic area in predicting dystocia in 103 late gestation Holstein-Friesian heifers and cows. *Theriogenology* 85:384–395
- Horst, R.L.** 1986. Regulation of Calcium and Phosphorus Homeostasis in the Dairy Cow. *J Dairy Sci* 69:604–616. doi:10.3168/jds. S0022-0302(86)80445-3.
- Horst, R. L., J. P. Goff, and T. A. Reinhardt.** 2003. Role of vitamin D in calcium homeostasis and its use in prevention of bovine periparturient paresis. *Acta Vet. Scand. Suppl.* 97:35–50.
- Horst, R. L., J. P. Goff, T. A. Reinhardt, and D. R. Buxton.** 1997. Strategies for preventing milk fever in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 80:1269–1280.
- Johnson, K. Y., J. P. Lulich, and C. A. Osborne.** 2007. Evaluation of the reproducibility and accuracy of pH-determining devices used to measure urine pH in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 230:364–369
- Kandeel SA, Megahed AA, Ebeid MH, Constable PD.** Ability of milk pH to predict subclinical mastitis and intramammary infection in quarters from lactating dairy cattle. *J Dairy Sci.* 2019;102(2):1417- 1427.
- Kichura, T. S., R. L. Host, D. C. Beitz, and E. T. Littledike.** 1982. Relationships between prepartal dietary calcium and phosphorus, vitamin D metabolism, and parturient paresis in dairy cows. *J. Nutr.* 112:480–487.
- Kimura, K., J.P. Goff, and M.E. Kehrli, Jr.** 1999. Effects of the presence of the mammary gland on expression of neutrophil adhesion molecules and myeloperoxidase activity in periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82:2385-2392.

- Kimura, K., J.P. Goff, M.E. Kehrli, Jr., and T.A. Reinhardt.** 2002. Decreased neutrophil function as a cause of retained placenta in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 85:544-550.
- Kimura, K., T.A. Reinhardt, and J.P. Goff.** 2006. Parturition and hypocalcemia blunts calcium signals in immune cells of dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 89:2588- 2595.
- Kronqvist, C., U. Emanuelson, R. Spörndly, and K. Holtenius.** 2011. Effects of prepartum dietary calcium level on calcium and magnesium metabolism in periparturient dairy cows. *J Dairy Sci* 94:1365–1373. doi:10.3168/jds.2009-3025.
- Kronqvist, C.,** 2011. Institutionen för husdjurens utfodring och vård. 2011. Minerals to Dairy Cows with Focus on Calcium and Magnesium Balance. Department of Animal nutrition and management, Swedish University of Agricultural Sciences.
- Lean, I.J., J.E.P. Santos, E. Block, and H.M. Golder.** 2019. Effects of prepartum dietary cation-anion difference intake on production and health of dairy cows: A meta-analysis. *J Dairy Sci* 102:2103–2133. doi: 10.3168/jds.2018-14769.
- Lopreiato, V., M. Mezzetti, L. Cattaneo, G. Ferronato, A. Minuti, and E. Trevisi.** 2020. Role of nutraceuticals during the transition period of dairy cows: A review. *J Anim Sci Biotechnol* 11. doi:10.1186/s40104-020-00501-x.
- Massey, C. D., C. Wang, G. A. Donovan, and D. K. Beede.** 1993. Hypocalcemia at parturition as a risk factor for left displacement of the abomasums in dairy cows. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 203:852–853.
- Megahed, A.A., W. Grünberg, and P.D. Constable.** 2019. Clinical utility of urine specific gravity, electrical conductivity, and color as on-farm

- methods for evaluating urine concentration in dairy cattle. *J Vet Intern Med* 33:1530–1539. doi:10.1111/jvim.15502.
- Moodie, E.W., Robertson, A.**, 1962. Some aspects of calcium metabolism in the dairy cow. *Research in Veterinary Science* 3, 470–484
- Mulligan, F., L. O’grady, D. Rice, and M. Doherty.** 2005. Production diseases of the transition cow: Milk fever and subclinical hypocalcaemia. December.
- Murray, R. D., J. E. Horsfield, W. D. McCormick, H. J. Williams, and D. Ward.** 2008. Historical and current perspectives on the treatment, control and pathogenesis of milk fever in dairy cattle. *Vet. Rec.* 163:561–565.
- Neves, R.C., B.M. Leno, T. Stokol, T.R. Overton, and J.A.A. McArt.** 2017. Risk factors associated with postpartum subclinical hypocalcemia in dairy cows. *J Dairy Sci* 100:3796–3804. doi:10.3168/jds.2016-11970.
- NRC.** 2001. *Nutrient Requirements for Dairy Cattle* 7th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
- NRC,** 2021. *Nutrient Requirements for Dairy Cattle* 8th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC. Animal nutrition series.
- Oetzel, G.R.,** 2000. Management of dry cows for the prevention of milk fever and other mineral disorders. *The Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 16, 369–386.
- Oetzel, G.R., Fettekn, M.J., Hamar, D.W.,** 1991. Screening of anionic salts for palatability, effects on acid–base status, and urinary calcium excretion in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 74, 965–971.
- Oetzel, G.R., Olson, J.D., Curtis, D.R., Fettekn, M.J.,** 1988. Ammonium chloride and ammonium sulphate for prevention of parturient paresis in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 71, 3302–3309.

- Overton, T.R., and M.R. Waldron.** 2004. Nutritional management of transition dairy cows: Strategies to optimize metabolic health. *J Dairy Sci* 87. doi:10.3168/jds. S0022-0302(04)70066-1.
- Ramberg, C. F., G. P. Mayer, D. S. Kronfeld, J. M. Phang, and M. Bergman.** 1970. Calcium kinetics in cows during late pregnancy, parturition, and early lactation. *Am. J. Physiol.* 219:1166–1177.
- Ramberg, C. F. Jr., E. K. Johnson, R. D. Fargo, and D. S. Kronfeld.** 1984. Calcium homeostasis in cows, with special reference to parturient hypocalcemia. *Am. J. Physiol.* 246: R698–R704.
- Ramberg, C. F. Jr., G. P. Mayer, D. S. Kronfeld, and J. T. Potts Jr.** 1976. Dietary calcium, calcium kinetics and plasma parathyroid hormone concentration in cows. *J. Nutr.* 106:671–679.
- Reinhardt, T. A., J. D. Lippolis, B. J. McCluskey, J. P. Goff, and R. L. Horst.** 2011. Prevalence of subclinical hypocalcemia in dairy herds. *Vet. J.* 188:122–124.
- Rérat, M., A. Philipp, H. D. Hess, and A. Liesegang.** 2009. Effect of different potassium levels in hay on acid-base status and mineral balance in periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 92:6123–6133
- Reynolds CK, Aikman PC, Lupoli B, Humphries DJ, Beever DE.** Splanchnic metabolism of dairy cows during the transition from late gestation through early lactation. *J Dairy Sci* 2003; 86:1201e17.
- Rodríguez, E.M., A. Arís, and A. Bach.** 2017. Associations between subclinical hypocalcemia and postparturient diseases in dairy cows. *J Dairy Sci* 100:7427–7434. doi:10.3168/jds.2016-12210.
- Sanchez, W.K., D.K. Beede, and J.A. Cornell.** 1994. Interactions of Sodium, Potassium, and Chloride on Lactation, Acid-Base Status, and Mineral Concentrations. *J Dairy Sci* 77:1661–1675. doi:10.3168/jds. S0022-0302(94)77108-3.

- Sansom, B. F., R. Manston, and M. J. Vagg.** 1983. Magnesium and milk fever. *Vet. Rec.* 112:447–449.
- Santos, J.E.P., I.J. Lean, H. Golder, and E. Block.** 2019. Meta-analysis of the effects of prepartum dietary cation-anion difference on performance and health of dairy cows. *J Dairy Sci* 102:2134–2154. doi: 10.3168/jds.2018-14628.
- Sprecher, D. J., D. E. Hostetler, and J. B. Kaneene.** 1997. A lameness scoring system that uses posture and gait to predict dairy cattle reproductive performance. *Theriogenology* 47:1179–1187.
- Weiss WP, Hogan JS, Smith KL, et al.** Effect of supplementing periparturient cows with vitamin E on distribution of alpha-tocopherol in blood. *J Dairy Sci* 1992; 75:3479–85.
- Weiss WP, Hogan JS, Smith KL, et al.** Effect of dietary fat and vitamin E on alpha- tocopherol and beta-carotene in blood of peripartum cows. *J Dairy Sci* 1994;77: 1422–9.
- Weiss WP, Todhunter DA, Smith KL.** Effect and duration of supplementation of selenium and vitamin E on periparturient cows. *J Dairy Sci* 1990; 1990:3187–94.
- Zimpel, R., Poindexter, M. B., Vieira-Neto, A., Block, E., Nelson, C. D., Staples, C. R., Thatcher, W. W. and Santos, J. E. P.** 2018. Effect of dietary cation-anion difference on acid-base status and dry matter intake in dry pregnant cows. *J. Dairy Sci.* 101: 8461–8475.