

**UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PARMA**

**FACOLTA' DI MEDICINA VETERINARIA**

**DIPARTIMENTO DI SALUTE ANIMALE**

Dottorato di ricerca in Salute Animale

Ciclo XXIII

**LA CORRETTA GESTIONE DEL VITELLO DA  
LATTE. PROFILASSI E TERAPIE DELLE  
PRINCIPALI PATOLOGIE NEONATALI**

Coordinatore:

Chiar.mo Prof. Sandro Cavirani

Tutor:

Chiar.mo Prof. Enrico Parmigiani

Dottorando: Dott.ssa Elena Magnani

**ANNI  
2008-2010**

# INDICE

## CAPITOLO I

I.1 LA LEGISLAZIONE E IL BENESSERE ANIMALE	3
--	---

## CAPITOLO II

II.1 ASSISTENZA AL PARTO E RIANIMAZIONE DEL VITELLO NEONATO	6
- Modificazioni cardiopolmonari alla nascita	6
- Modificazioni acido-basiche alla nascita ed emogasanalisi	7
- Processi di difesa tampone	9
- Anion Gap (AG)	10
- Differenza fra ioni forti (SID, strong ion difference)	11
- Segni clinici associati all'ipossia e all'acidosi nel vitello neonato	12
- Principi di rianimazione	12
II.2 IMMUNITA' NEONATALE	16
- Sostitutivi del colostro	18
- Colostro fermentato e bicarbonato	18
- Colostro pastorizzato	19
II.3 PATOLOGIE DELL'APPARATO GASTROENTERICO	19
- La diarrea neonatale e principali agenti patogeni	19
- Alterazioni conseguenti alla diarrea e D-lattato	31
- Fluidoterapia e soluzioni reidratanti orali	32
- Antibioticoterapia	34
II.4 PATOLOGIE DELL'APPARATO RESPIRATORIO	34
- Principali agenti patogeni	36

- Terapia	40
<b>CAPITOLO III</b>	
III.1 INDAGINI PERSONALI	42
- Efficacia della gestione del vitello da latte dalla nascita allo svezzamento in relazione alle patologie e alla mortalità neonatale e perinatale	42
- Indagine preliminare sull'immunità passiva trasmessa ai vitelli da latte e Correlazione con la diarrea neonatale e perinatale	44
III.2 ABSTRACTS	46
<b><i>Bibliografia</i></b>	<b>47</b>

# CAPITOLO I

## I.1 LA LEGISLAZIONE E IL BENESSERE ANIMALE

Si discute ormai molto sulla questione dei diritti degli animali, riconoscendo che questo primo passo in apparenza teorico, implica conseguenze pratiche molto rilevanti. Infatti, come per altri diritti civili, il percorso va dall'acquisizione del concetto, al riconoscimento del principio e alla sua applicazione in ogni contesto. Per la valutazione del benessere o del suo contrario, il malessere, si hanno a disposizione alcuni elementi o indicatori. Esistono due fondamentali punti di approccio: l'analisi dello *stress*, cioè delle negatività delle condizioni di mantenimento, oppure la valutazione dello stato di benessere, detto in termini anglosassoni "Welfare". Selye, che ha coniato termine "stress", lo intende come risposta specifica dell'organismo necessaria al medesimo per adattarsi ad una molteplicità di stimoli esterni e non alla salvaguardia della sopravvivenza e dell'integrità fisica dell'animale. Tale definizione ha subito un'evoluzione e oggi si tende a considerare lo stress come una reazione di adattamento dell'organismo ad uno stimolo non specifico che si innesca in seguito ad un evento emozionale acuto. Il "welfare", che indica non solo se è presente o meno il benessere, ma anche la necessità di misurazione di questo, appare quindi un mezzo più appropriato per gli utilizzi scientifici e legislativi. Donald M. Broom e Ken G. Johnson definiscono il welfare come la "condizione di un individuo in relazione alla sua capacità di affrontare l'ambiente in cui vive"; gli stessi autori aggiungono subito dopo che "la condizione riguardo la capacità di affrontare l'ambiente" si riferisce sia a quanto deve essere fatto per affrontare le avversità ambientali sia alla quantità di tentativi coronati da successo.

La "capacità di affrontare" include il funzionamento del sistema di riparazione dell'organismo, le difese immunitarie e le risposte fisiologiche d'emergenza e una varietà di risposte comportamentali. In virtù di questo meccanismo si verifica un'alternanza tra gli stati di malessere e di benessere.

La valutazione dello stato di benessere animale, richiedendo competenze e cognizioni specifiche di etologia, fisiologia, patologia e sanità animale, può essere fatta unicamente da un medico veterinario. Nel nostro Paese la protezione degli animali, inclusi pesci, rettili e anfibi, allevati o custoditi per la produzione di derrate alimentari, lana, pelli, pellicce o per altri scopi agricoli è regolamentata dal decreto legislativo n. 146/2001, attuazione della direttiva 98/58/CE e da norme specifiche relative all'allevamento dei vitelli, dei suini, delle galline ovaiole. Ai sensi della direttiva 98/58/CE gli Stati Membri devono garantire il rispetto delle disposizioni concernenti la protezione degli animali negli allevamenti e verificarne l'applicazione attraverso l'esecuzione di ispezioni. Le Autorità competenti in materia sono, a diversi livelli, i Servizi Veterinari del Ministero della Salute (Direzione Generale della sanità animale e del farmaco veterinario), delle Regioni e Province autonome di Trento e Bolzano e delle Aziende sanitarie territoriali. Il regolamento (CE) n. 882/2004, entrato in applicazione il 1° gennaio 2006, prevede che gli Stati membri eseguano programmi di controllo e redigano relazioni annuali indicanti i risultati delle ispezioni condotte in diversi settori connessi con la sicurezza alimentare, compreso il benessere degli animali. Sino ad oggi sul territorio nazionale i controlli per il benessere animale negli allevamenti sono stati effettuati sulla base di una programmazione stabilita in ambito locale, tenendo conto di alcune indicazioni di base fornite dal Ministero della Salute attraverso la circolare del 5 novembre 2001, n. 10, nonché con le note esplicative del 2 marzo 2005 e del 25 luglio 2006, concernente rispettivamente i suini e i vitelli. La decisione n. 778/2006, entrata in applicazione dal 1° gennaio 2008,

stabilisce che le ispezioni debbono riguardare tutte le specie d'allevamento che rientrano nel campo di applicazione della direttiva 98/58/CE e non solo vitelli, suini, galline ovaiole. Il presupposto fondamentale su cui si basa detta decisione è che le difformità applicative delle norme in materia di benessere animale potrebbero da una parte compromettere il benessere degli animali allevati e dall'altra provocare una distorsione nella leale concorrenza di mercato. Il "piano nazionale per il benessere animale (PNBA) " nasce dall'esigenza di ottemperare alle disposizioni previste dalle norme nazionali e comunitarie, di rendere uniformi le modalità di esecuzione e la programmazione dei controlli e deriva anche dalla consapevolezza che è necessario migliorare la formazione dei medici veterinari e degli allevatori relativamente alle tematiche di benessere animale. I veterinari ufficiali, oltre a garantire attraverso i controlli che gli allevatori osservino le disposizioni vigenti, svolgono un importante compito "formativo" sugli allevatori stessi, fornendo indicazioni relative alle esigenze strutturali ed alle corrette pratiche di allevamento. Infatti, il medico veterinario è chiamato a far comprendere all'allevatore che la tutela del benessere degli animali, sancito come principio fondamentale della nostra Società, implica l'utilizzazione di tecniche di allevamento che, migliorando le performance produttive, coincidono anche con gli interessi della produzione. Ai fini della corretta applicazione delle norme minime di protezione degli animali in allevamento, si ritiene opportuno promuovere tra gli allevatori l'applicazione delle "buone pratiche di allevamento" e, dove è possibile, indirizzare verso l'implementazione di "piani di autocontrollo aziendale" che contemplino il rispetto dei parametri di benessere animale. Nell'ambito dei suddetti piani il veterinario privato che visita l'azienda o il *veterinario aziendale* (art. 3, comma 3 del D. Lgs. n. 117 del 27 maggio 2005) dove presente, possono essere individuati come referenti per il benessere animale in quanto presentano gli interlocutori ideali del veterinario ufficiale. Si precisa tuttavia che la responsabilità dell'applicazione delle norme di benessere animale ricade, in ogni caso, sull'allevatore. La documentazione relativa ai programmi di autocontrollo su base volontaria, messa a disposizione dei Servizi Veterinari ufficiali, consente di rendere meno gravosa e più costruttiva l'attività di vigilanza, sia per l'allevatore, che per le stesse Autorità di controllo. In considerazione dei risultati dei controlli effettuati negli allevamenti nel corso degli ultimi anni e alla luce del regolamento (CE) n. 882/2004 e della decisione n 778/2006 è stata stabilita una programmazione minima di controlli su base annuale. Sono State stabilite priorità di intervento in base alla specie ad al numero dei capi. Per i vitelli la priorità riguarda l'allevamento a carne bianca, che dal punto di vista del benessere animale si presenta a "maggior rischio" e per il quale si applicano le disposizioni previste dal D.Lgs 30 dicembre 1992 n. 533 e successive modifiche.

**Decreto legislativo 30 dicembre 1992, n. 533**

**Attuazione della direttiva 91/629/CEE che stabilisce le norme minime per la protezione dei vitelli.**

**D.Lgs. 1° settembre 1998, n. 331**

**Attuazione della direttiva 97/2/CE che stabilisce le norme minime per la protezione dei vitelli**

Il vitello è un animale della specie bovina di età inferiore a sei mesi. Nessun vitello di età superiore alle otto settimane deve essere rinchiuso in un recinto individuale, a meno che un veterinario non abbia certificato che il suo stato di salute o il suo comportamento esiga che sia isolato dal gruppo al fine di essere sottoposto ad un trattamento diagnostico e terapeutico. La larghezza del recinto individuale deve essere almeno pari all'altezza al garrese del vitello, misurata quando l'animale è in posizione eretta, e la lunghezza deve essere almeno pari alla

lunghezza del vitello, misurata dalla punta del naso all'estremità caudale della tuberosità ischiatica e moltiplicata per 1,1. Ogni recinto individuale per vitelli, salvo quelli destinati ad isolare gli animali malati, non deve avere muri compatti, ma pareti divisorie traforate che consentano un contatto diretto, visivo e tattile tra i vitelli; per i vitelli allevati in gruppo, lo spazio libero disponibile per ciascun vitello deve essere pari ad almeno **1,5 m<sup>2</sup>** per ogni vitello di peso vivo inferiore a **150 Kg**. I materiali utilizzati per la costruzione dei locali di stabulazione, non devono essere nocivi per i vitelli e devono poter essere accuratamente puliti e disinfettati. I circuiti elettrici deve essere conforme alla regolamentazione nazionale in vigore volta ad evitare qualsiasi scossa elettrica. L'isolamento termico, il riscaldamento e la ventilazione devono consentire di mantenere entro limiti non dannosi per i vitelli la circolazione dell'aria, la quantità di polvere la temperatura, l'umidità relativa dell'aria e le concentrazioni di gas. I pavimenti devono essere non sdruciolevoli e senza asperità per evitare lesioni ai vitelli. Devono essere costruiti in modo da non causare lesioni o sofferenza ai vitelli in piedi o coricati, adeguati alle dimensioni ed al peso dei vitelli e costituire una superficie rigida, piana e stabile. La zona in cui si coricano i vitelli deve essere confortevole, pulita, adeguatamente prosciugata e non dannosa per i vitelli. Per tutti i vitelli di età inferiore a due settimane deve essere prevista una lettiera adeguata. I vitelli **non devono essere legati**, ad eccezione di quelli stabulati in gruppo che possono essere legati per un periodo **massimo di un'ora** al momento della somministrazione di latte e succedanei del latte. La stalla, i recinti, le attrezzature e gli utensili devono essere puliti e disinfetti regolarmente in modo da prevenire infezioni incrociate o lo sviluppo di organismi infettivi. A partire dalla seconda settimana di età, ogni vitello deve poter disporre di acqua fresca adeguata in quantità sufficiente oppure poter soddisfare il proprio fabbisogno in liquidi bevendo altre bevande. Tuttavia, i vitelli malati e sottoposti a condizioni atmosferiche di grande calore devono poter disporre di acqua fresca in ogni momento. Le attrezzature per la somministrazione di mangimi e di acqua devono essere concepite, costruite, installate e mantenute in modo da ridurre al minimo le possibilità di contaminazione degli alimenti o dell'acqua destinati ai vitelli. Ogni vitello deve ricevere colostro bovino quanto prima possibile dopo la nascita e comunque entro le prime sei ore di vita. Ai vitelli deve essere somministrata un'alimentazione adeguata alla loro età e al loro peso e conforme alle loro esigenze comportamentali e fisiologiche, onde favorire buone condizioni di salute e di benessere. A tal fine gli alimenti devono avere un tenore di ferro sufficiente per raggiungere **un tasso di emoglobina di almeno 4,5 mmol/litro**: una dose giornaliera di alimenti fibrosi deve essere somministrata ad ogni vitello dopo la seconda settimana di età e il quantitativo deve essere portato da 50 a 250 grammi al giorno per i vitelli di età compresa fra le 8 e le 20 settimane. Ai vitelli non dev' essere messa la museruola. Se i vitelli sono stabulati in gruppo e non sono alimentati ad libitum o mediante sistemi automatici, ciascun vitello deve avere accesso agli alimenti contemporaneamente agli altri vitelli del gruppo.

#### SANZIONI:

*SALVO CHE IL FATTO NON COSTITUISCA REATO, CHI VIOLA LE DISPOSIZIONI DI CUI ALL'ART. 3 ,  
COMMA 1 DEL PRESENTE DECRETO, E' PUNITO CON LA SANZIONE AMMINISTRATIVA DEL  
PAGAMENTO DI UNA SOMMA DA LIRE TRE MILIONI A LIRE DICIOOTTO MILIONI.*

**N.B.** A decorrere dal 1° gennaio 2002 ogni sanzione penale o amministrativa espressa in lire è tradotta in euro al tasso di conversione di 1936,27.

**Regolamento (CE) n. 1/2005 del Consiglio, del 22 dicembre 2004, sulla protezione degli animali durante il trasporto e le operazioni correlate che modifica le direttive 64/432/CEE e 93/119/CE e il regolamento (CE) n. 1255/97**

Gli animali appena nati sono considerati idonei al trasporto quando l'ombelico esterno è del tutto cicatrizzato. La cicatrizzazione dell'ombelico esterno può intendersi, di norma, completata attorno al 10° giorno di vita. E' vietato il trasporto dei vitelli di età < ai 10 gg per trasporti >100 Km. Le disposizioni relative alla durata di percorso e agli spazi previsti per gli animali restano immutate rispetto alla vecchia regolamentazione. Per quanto riguarda la durata del trasporto, il regolamento prevede durate diverse secondo il tipo di animali: 9 ore di viaggio, poi un'ora di riposo per l'abbeveraggio, poi 9 ore di viaggio per gli animali non svezzati, che ricevono un'alimentazione lattea.

## **CAPITOLO II**

### **II.1 ASSISTENZA AL PARTO E RIANIMAZIONE DEL VITELLO NEONATO**

Un numero considerevole di vitelli muore alla nascita con un'incidenza pari al 75% entro un'ora dal parto (Nagy D. W., 2009). Il principale fattore di rischio è la distocia che causa la maggior parte delle perdite dirette, mentre i vitelli che sopravvivono hanno una probabilità pari a 2,4 volte in più di contrarre malattie infettive, durante i primi 45 giorni di vita, rispetto a vitelli nati da parto eutocico (Grove-White D. H., 2005). La riduzione del numero dei decessi al momento della nascita riguarda soprattutto la diminuzione dell'incidenza della distocia. Tra gli altri fattori che incidono sulla morbilità e mortalità neonatale si devono ricordare i processi infettivi, le carenze di oligoelementi, i difetti congeniti e misure gestionali non corrette.

#### **Modificazioni cardiopolmonari alla nascita**

L'evento chiave nel passaggio dalla vita intrauterina all'esistenza indipendente è l'inizio dei movimenti respiratori, con l'insufflazione dei polmoni e la successiva ossigenazione del sangue. In utero, gli spazi aerei alveolari potenziali dei polmoni fetali sono parzialmente distesi da un fluido attivamente secreto dai tessuti polmonari. Durante il parto, una certa quota di questo fluido viene evacuata attraverso la laringe, ma la maggior parte viene assorbita attraverso le pareti alveolari negli stadi iniziali della ventilazione. L'assorbimento del fluido coinvolge sia i recettori adrenergici dell'epitelio polmonare che l'ormone tiroideo. Verso la fine dello sviluppo fetale, i pneumociti di tipo2 producono il surfactante, che favorisce l'espansione polmonare iniziale e la stabilizzazione alveolare per cui gli alveoli restano parzialmente insufflati dopo l'esalazione, permettendo così alla reinsufflazione di avvenire con minore sforzo. Il surfactante riduce lo sforzo necessario per superare l'elevata tensione superficiale presente negli alveoli non insufflati (una situazione simile a quella che si ha quando si gonfia un palloncino: il primo soffio è più difficile a causa dell'elevata tensione superficiale presente nel palloncino collassato). Come conseguenza dell'insufflazione

polmonare, il letto vascolare si apre e il flusso ematico attraverso l'organo aumenta in modo impressionante. Ciò, a sua volta, modifica le relazioni pressorie del sistema cardiovascolare determinando entro pochi minuti dalla nascita una chiusura funzionale del forame ovale e del dotto arterioso, mentre il dotto venoso si chiude poche ore più tardi. Al momento della nascita, il feto di norma non presenta ipossia, a condizione che non si sia verificata una rottura ombelicale. Tuttavia, con la rottura del cordone ombelicale si sviluppa rapidamente un'asfissia associata a un incremento della tensione ematica di biossido di carbonio. Questo incremento della  $p\text{CO}_2$  è lo stimolo primario che fa iniziare la respirazione e successivamente l'insufflazione polmonare, da cui dipendono tutti gli altri eventi che hanno importanza cruciale. Occorre tenere presente che un aumento della  $p\text{CO}_2$  determina un'acidosi respiratoria, la cui presenza in forma lieve costituisce un evento normale al momento della nascita. Tuttavia, in caso di distocia o di parto molto prolungato, lo *status* dei gas ematici fetali viene compromesso con lo sviluppo di ipossia ed un marcato aumento della  $p\text{CO}_2$ . Inoltre l'ipossia può essere abbastanza grave da far sì che i tessuti fetali passino ad una respirazione di tipo anaerobico con produzione di acido lattico. Di conseguenza il vitello neonato può essere affetto da una grave acidosi respiratoria e metabolica, sufficiente a comprometterne la sopravvivenza.

## **Modificazioni acido-basiche alla nascita ed emogasanalisi**

Gli studi condotti sullo status dei gas ematici nella vena giugulare del vitello neonato suggeriscono che il pH venoso sia solitamente compreso entro i limiti di 7,2-7,3 nei vitelli sani (lieve acidosi) nati senza bisogno di assistenza, anche se questi valori sono molto labili. Nei casi di distocia il pH può scendere a 7,0 o anche meno (Grove-White D. H., 2005). Nei vitelli sani, la lieve acidosi metabolica si corregge entro poche ore dalla nascita, mentre quella respiratoria può persistere anche per 48 ore. Il pH ematico risulta compreso nei limiti normali (7,4) entro 12 ore da un parto normale. I corrispondenti periodi di tempo per i vitelli nati con gravi disturbi acido basici sono considerevolmente più prolungati e non possono essere previsti. Spesso, in questi casi, l'acidosi respiratoria e metabolica non viene mai corretta e contribuisce a determinare la morte dell'animale.

Per misurare lo stato acido-base di un mezzo come quello ematico sarebbe molto semplice utilizzare un pHmetro, ma in questo modo non si otterrebbe alcuna informazione riguardante la causa che ha prodotto l'alterazione, aspetto che invece è fondamentale per i fini terapeutici. L'emogasanalisi è l'unico esame che ci permette di stabilire lo stato acido-base del sangue e l'efficienza dell'apparato cardiopolmonare nello scambiare ossigeno con l'ambiente.

Mediante questa tecnica di analisi si ottiene una misura del pH e dei gas coinvolti nel suo equilibrio. Per interpretare i risultati s'inizia riconoscendo l'origine del campione (arterioso, venoso o misto). Le misurazioni si leggono poi nel seguente ordine: **pH**,  **$\text{PCO}_2$**  (pressione parziale dell'anidride carbonica) e  **$\text{HCO}_3^-$**  (concentrazione degli ioni bicarbonato). Le alterazioni di ciascuna componente possono esprimere tre diversi significati: causa del disordine acido base, partecipazione diretta alla difesa dell'omeostasi degli idrogenioni, risultato indiretto della causa del disordine o dei processi di difesa dell'omeostasi.

- **pH**, quando è inferiore di **7.2**, si ha acidemia, quando è maggiore di **7.4**, si ha alkalemia (Constable P. D., 1999; Arnaudo F., 2009)
- **$\text{PCO}_2$** , quando è maggiore di **55** mmHg, abbiamo un'acidosi respiratoria e quando è inferiore a **45** mmHg, abbiamo un'alcalosi respiratoria (Constable P. D., 1999; Arnaudo F., 2009)
- **$\text{HCO}_3^-$** , quando è inferiore a **22** mmol/l con un BE (*Base Excess*) **negativo** vi è un'acidosi metabolica, quando è maggiore a **28** mmol/l con un BE maggiore di **4** si ha un'alcalosi metabolica (Arnaudo F., 2009)

Il pH è il logaritmo negativo in base 10 della concentrazione degli idrogenioni in Eq/l e permette di esprimere in maniera semplificata i valori di concentrazione molto bassi d'interesse fisiologico. Nell'ambito di un pH compreso tra 7.3 e 7.5 la  $[H^+]$  è compresa tra 50 e 30 nEq/l. Il metodo potenziometrico, comunemente impiegato negli emogasanalizzatori, misura solo la concentrazione degli idrogenioni liberi; questo è un vantaggio perché ciò che conta dal punto di vista fisiologico è la concentrazione degli idrogenioni liberi, che possono reagire con il sito attivo di un enzima inattivandolo o possono combinarsi con le cariche negative di una struttura proteica denaturandola o modificandone una funzione biologica. Risulta perciò evidente **il significato dei tamponi nella difesa del pH**: questi inattivano gli ioni idrogeno incorporandone una parte in forma in dissociata quando la concentrazione degli  $H^+$  aumenta e liberandoli quando questa diminuisce, limitando in entrambi i casi le variazioni del pH. Una funzione tampone sfrutta l'equilibrio di dissociazione degli acidi deboli, che in soluzione si dissociano solo in parte nella loro base coniugata. Da queste considerazioni si giunge all'equazione di Henderson-Hasselbach, che dimostra come le variazioni della concentrazione degli idrogenioni siano proporzionali alle variazioni del rapporto tra acido debole e sua base coniugata:

$$pH = pK + \log [A^-] / [HA]$$

Nell'organismo le specie chimiche maggiormente coinvolte nell'equilibrio acido-base sono **l'acqua e l'anidride carbonica**. L'acido carbonico è un acido forte al pH fisiologico e si dissocia quindi pressoché completamente in  $H^+$  e  $HCO_3^-$ :



Assumendo  $[H_2O]$  costante, riassumendo le costanti di dissociazione in un'unica costante  $K'$  (il cui valore è di 8 nEq/l =  $pK' 6.1$ ) l'equazione di Henderson-Hasselbach risulta:

$$pH = 6.1 + \log [HCO_3^-] / [CO_2]$$

L'emogasanalisi ci fornisce il valore della  $PCO_2$ , che rappresenta **la misura della  $CO_2$  fisicamente disciolta nel plasma**; quest'ultima è proporzionale alla pressione parziale della  $CO_2$  nella fase gassosa con cui il sangue è in equilibrio ed al coefficiente di solubilità del gas, che per la  $CO_2$  nel sangue a  $37^\circ C$  è 0.03 mmol/l/mmHg.

La concentrazione reale di ioni bicarbonato nel plasma non è misurata, ma è calcolata mediante l'equazione  $[HCO_3^-] \text{ mEq/l} = 0.03 * PCO_2 * 10^{(pH-6.129)}$ . Essendo ricavato dal pH e dalla  $PCO_2$  questo parametro non può mai rappresentare una misura indipendente della componente respiratoria di un disturbo acido-basse, quindi non offre informazioni addizionali riguardo la causa degli squilibri in analisi rispetto a quanto già non facciamo per le misurazioni del pH e della  $PaCO_2$ . **Il bicarbonato standard (SBC)** consente, invece, una misurazione più accurata della variazione dell' $HCO_3^-$ , in quanto deriva da due componenti, una dovuta al disordine in sé (componente metabolica), l'altra alle variazioni della  $PCO_2$  conseguenti al compenso respiratorio (componente respiratoria). Per valutare la diminuzione del bicarbonato dovuta solamente al disordine metabolico è necessario escludere la componente respiratoria mediante la tecnica dell'equazione di Astrup, ricavando la concentrazione del bicarbonato tramite estrapolazione alla  $PCO_2$  di 40 mmHg, ottenendo così SBC. Questo parametro è infatti definito come la concentrazione di ioni bicarbonato in mEq/l nel plasma quando il sangue ossigenato è equilibrato a  $37^\circ C$  con una miscela di gas aventi  $PCO_2$  di 40 mmHg. Singer e Hastings hanno inoltre introdotto il concetto di Buffer Base (BB) che è definito come la somma della concentrazione del bicarbonato e **delle basi tampone non-bicarbonato (emoglobina, proteine plasmatiche)**, la cui misura è ottenibile mediante

titolazione del sangue con un acido forte; in condizioni fisiologiche il suo valore medio è di 48 mEq/l per il sangue ossigenato. **E' un valore utile per distinguere in un disordine del pH la componente metabolica da quella respiratoria.** La variazione relativa di BB, posto il valore medio normale uguale a zero, viene definita eccesso di basi (BE) e in condizioni fisiologiche

$$\text{BE} = 0 \pm 6 \text{ mmol/l}$$

Questo valore può anche essere definito come la quantità di un acido forte (come l'acido cloridrico) necessaria per titolare il pH di sangue umano ossigenato al 100% a 7.4 ed a una temperatura di 37°C e PCO<sub>2</sub> di 40 mmHg. **Valori superiori a +6 mEq/l indicano un'alcalosi non respiratoria, mentre valori minimi di -6 mEq/l (definiti anche *Base Deficit*) definiscono un'acidosi non respiratoria.** La limitazione di questi indici è che essi sono ricavati da misure in vitro, che non riproducono realmente le variazioni che avvengono in vivo, dove il bicarbonato diffonde dal plasma circolante nel più ampio spazio interstiziale ed anche nel compartimento intracellulare. In considerazione di queste limitazioni, questo indice è stato modificato valutando il contributo di **emoglobina** ed esprimendo BE in forma di ***extra cellular base excess (BE standard)***, fornendo così una stima migliore della quantità di bicarbonato richiesta (in mEq/l) per correggere l'acidosi metabolica. Viene quindi assunta una concentrazione fissa di emoglobina di 3g/dl, poiché i fluidi extracellulari sono costituiti da una parte di sangue e quattro di fluidi extravascolari. Poiché questi ultimi non contengono emoglobina ed hanno un contenuto proteico ridotto, rispondono agli scompensi acido-base come se avessero un quinto della normale concentrazione di emoglobina ematica (assunta come 15 g/dl) (Tarantino M., 2000; Arnaudo F., 2009). Generalmente il bicarbonato costituisce circa la metà del valore BE. **Un aumento del BE può essere dovuto ad un aumento di basi oppure ad una diminuzione di acidi, mentre l'inverso si avrà nella diminuzione del BE.**

## Processi di difesa tampone

Gli organi coinvolti nei meccanismi di difesa tampone in corso di squilibri acido-base sono il polmone e i reni. Il compenso respiratorio entra in azione nei compensi di origine non respiratoria. Un accumulo di CO<sub>2</sub> plasmatica (acidosi respiratoria) verrà eliminata dal polmone seguendo la formula:  $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}^+ + \text{HCO}_3^-$  nel globulo rosso  $\rightarrow$  DOVE H<sup>+</sup> si lega all'emoglobina e viene trasportato al polmone per essere eliminato con la respirazione, mentre HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> viene scambiato con il cloro e andrà a svolgere azione tampone nei confronti degli acidi fissi. L'eliminazione polmonare di CO<sub>2</sub> aumenterà quindi in corso di acidosi respiratoria e diminuirà in corso di alcalosi respiratoria. Il compenso renale interviene sia nei disordini di origine metabolica sia in quelli respiratori. Questo consiste nell'eliminazione diretta per filtrazione glomerulare delle basi coniugate degli acidi fissi, nell'eliminazione di una quantità di idrogenioni equivalente a quella prodotta con gli acidi fissi ed inattivata dai tamponi e nella rigenerazione di una quantità di basi tampone equivalente a quella consumata nei processi di difesa tampone. L'eterogeneità eziopatogenetica, che contrasta con l'omogeneità del profilo emogasanalitico, contraddistingue i disordini di tipo metabolico; questo si riflette anche sulla diversità dei meccanismi tampone di difesa che tentano di correggere tali alterazioni acido-base. Queste alterazioni possono essere suddivise in due gruppi:

1. disordine primario del bilancio di idrogenioni
2. disordini primari del contenuto di bicarbonato nei liquidi corporei

Del primo gruppo fanno parte le acidosi da aumento della produzione o da diminuzione dell'eliminazione renale degli acidi fissi oltre a essere compresa l'alcalosi da perdita d'idrogenioni; in questi casi il tampone bicarbonato svolge il ruolo principale, pur essendovi

un contributo dei tamponi non bicarbonato con consumo (o produzione nel caso dell'alcalosi) di basi tampone. Nei disordini dovuti a un'alterazione primaria del contenuto di bicarbonato, come l'acidosi da perdite enteriche o renali di bicarbonato e l'alcalosi da eccesso di bicarbonato, la difesa del pH è affidata solo ai tamponi con bicarbonato, poiché (come nei disordini di origine respiratoria) la causa del disordine è uno dei componenti del tampone bicarbonato. In conclusione, in entrambi i gruppi si registra la medesima tipologia di alterazione della concentrazione di bicarbonato, **ma con significato diverso**. Inoltre va ricordato che i disordini semplici (metabolici e respiratori) possono combinarsi per cause tra loro indipendenti, formando i disordini acido-base misti. Le associazioni contrastanti (acidosi + alcalosi), che possono essere entrambe di tipo metabolico o una combinazione di metabolico più respiratorio (è impossibile avere alcalosi e acidosi respiratoria insieme), si mitigano vicendevolmente e spesso si manifestano all'emogasanalisi con i connotati di un disordine semplice (quelli della componente prevalente). Il riconoscimento di queste situazioni è importante in quanto il trattamento della sola componente emergente può scatenare l'altra. L'anamnesi e le manifestazioni cliniche, unite all'interpretazione del profilo emogasanalitico basata sui limiti di compenso nei disordini semplici, permettono di giungere alla diagnosi. Anche il profilo elettrolitico plasmatico è di grande importanza nella differenziazione dei disordini misti mediante il calcolo del **Gap Anionico**.

## Anion Gap (AG)

I cationi nell'organismo si distinguono in misurati (come il sodio e il potassio) e non misurati, in quanto contenuti in quantità inferiori (come calcio e magnesio); anche per gli anioni segue lo stesso principio, diversificandosi in misurati (come il cloro e il bicarbonato) e non misurati (come le proteine, i fosfati ed i solfati). Il concetto di Gap Anionico deriva dal principio dell'elettroneutralità, dove AG rappresenta la differenza tra gli anioni non misurati (UA) e i cationi non misurati (UC) nel siero. Questo può essere espresso dall'equazione:

$$[\text{Na}^+] + [\text{K}^+] + [\text{UC}] = [\text{Cl}^-] + [\text{HCO}_3^-] + [\text{UA}]$$

Di conseguenza avremo che

$$\text{AG} = [\text{UA}] - [\text{UC}] = ([\text{Na}^+] + [\text{K}^+]) - ([\text{Cl}^-] + [\text{HCO}_3^-])$$

In condizioni normali i cationi sono più numerosi degli anioni e l'Anion Gap è compreso in un intervallo tra **8.9-15 mEq/l** (Constable P. D. 1999). Quando aumentano gli anioni minori, quelli maggiori devono diminuire per mantenere il bilancio elettrolitico invariato, producendo l'aumento dell'AG; esempi di aumento degli anioni minori sono **l'acidosi lattica, la cheto acidosi e nefropatia cronica** (Viganò F. 2002). **L'acidosi metabolica con AG normale è tipica dell'insufficienza renale o della diarrea**: in corso di queste malattie, si verificano spesso perdite di bicarbonato con aumento compensatorio dello ione cloro, tanto da essere identificate come **acidosi ipercloremiche** (Tarantino M., 2000). Viceversa quando avrò molti acidi nel sangue e consumo del bicarbonato (lattati, acido urico, ione ammonio per insufficienza renale acuta) **avrò sempre un AG elevato**. Nell'ambito di una acidosi metabolica, quindi, l'Anion Gap è molto utile ai fini diagnostici per discriminare tra PERDITA e CONSUMO di bicarbonato e quindi per sapere se devo integrare o no bicarbonato e cloro nella terapia.

## Differenza fra ioni forti (SID, *strong ion difference*)

Recentemente sono stati sviluppati due approcci chimico-fisici meccanicistici quantitativi per descrivere l'equilibrio acido-basico negli animali; il modello degli ioni forti di Stewart del 1983 e quello semplificato di Constable del 1997. I due approcci sugli ioni forti presentano tre aspetti rivoluzionari:

1. l'equilibrio acido-basico viene esaminato utilizzando un approccio di sistemi
2. viene formulata una chiara distinzione concettuale tra variabili dipendenti ed indipendenti
3. vengono considerati gli effetti della concentrazione **di proteine** sull'equilibrio acido-basico

Le variabili indipendenti influenzano un sistema dall'esterno e non possono essere condizionate dalle variazioni all'interno del sistema o dalle variazioni tra le altre variabili indipendenti. Stewart propose che il pH plasmatico fosse determinato da tre fattori indipendenti:

- la differenza fra ioni forti (**SID**), che è la differenza fra il carico di cationi plasmatici forti (sodio, potassio, calcio, magnesio) e gli anioni plasmatici forti (cloro, lattato, solfato, chetoacidi, acidi grassi non esterificati e molti altri) in cui al pH fisiologico i cationi e gli anioni forti sono totalmente dissociati
- la **A<sub>tot</sub>**, che è la concentrazione plasmatica totale **di tamponi non volatili (albumina, globuline e fosfato inorganico)**
- la **PCO<sub>2</sub>**

Una differenza fisiologica fondamentale dall'equazione di Henderson-Hasselbach è che l'approccio agli ioni forti tratta il pH e la concentrazione di bicarbonato come delle variabili dipendenti e non come variabili indipendenti. Constable, attualmente, ha formulato una equazione degli ioni forti semplificando l'equazione di Henderson-Hasselbach e il modello degli ioni forti di Stewart, tale per cui:

$$\text{pH} = \text{pK}_1' + \log\left\{\frac{\text{SID} - [\text{A}_{\text{tot}} / (1 + 10^{\text{pK}_a - \text{pH}})]}{S \text{PCO}_2}\right\}$$

(Constable P. D., 2010)

Questa equazione stabilisce che il pH è una funzione di tre fattori indipendenti (PCO<sub>2</sub>, SID, A<sub>tot</sub>) e tre "costanti" (S, la costante di dissociazione apparente per l'acido carbonico plasmatico [K<sub>1</sub>'] e K<sub>a</sub>, la costante di dissociazione efficace per i tamponi non volatili del plasma). Dall'equazione degli ioni forti semplificata derivano numerose conseguenze cliniche. Dato che squilibri acido-basici clinicamente importanti sono dovuti ad alterazioni di PCO<sub>2</sub>, SID, o concentrazioni di singoli tamponi plasmatici ma non volatili (A<sub>tot</sub>; albumina, globuline, fosfato), **l'approccio agli ioni forti distingue sei alterazioni acido-basiche primarie (acidosi e alcalosi respiratoria, da ioni forti o da ioni di tamponi non volatili) invece delle quattro alterazioni acido-basiche primarie individuate dalla tradizionale equazione di Henderson-Hasselbach.** Il modello degli ioni forti spiega anche come **ipoproteinemia e iperproteinemia alterino il pH** (attraverso l'alterazione di A<sub>tot</sub>), mentre l'equazione di Henderson-Hasselbach non fornisce nessuna spiegazione di questo tipo. Il SID offre una stima della differenza tra strong cation e strong anion non misurati, mentre l'Anion Gap offre una stima della differenza tra cationi non misurati e l'insieme degli anioni non misurati, albumine, globuline e fosfati. Una variazione del SID è quindi più specifica ma nella pratica, comunque, viene utilizzato principalmente l'Anion Gap pur mantenendo un criterio

prudenziale nella sua valutazione, in particolare per valori inferiori a 20 mEq/l (a causa dell'influenza delle proteine e dei fosfati).

Recentemente, Constable *et al.* Hanno applicato la teoria della differenza degli ioni forti all'urina. L'escrezione urinaria acida netta (NAE) offre la più sensibile opportunità di esaminare clinicamente l'omeostasi acido-basica negli animali (anche più sensibile di quella rappresentata dall'emogasanalisi). La NAE urinaria è stata tradizionalmente calcolata come:

$$\text{NAE} = \text{TA} + [\text{NH}_4^+] - [\text{HCO}_3^-]$$

dove TA è l'acidità titolabile

Applicando la teoria degli ioni forti, l'equazione ricavata dall'urina dei bovini risulta:

$$\text{pH dell'urina} = 6.12 + \log_{10}([\text{K}^+] + [\text{Na}^+] + [\text{Mg}^{2+}] + [\text{Ca}^{2+}] + [\text{NH}_4^+] - [\text{Cl}^-] - [\text{SO}_4^{2-}])$$

Questa equazione ha indicato che il pH urinario fornisce una valutazione accurata dell'omeostasi acido-basica sistemica del vitello sano soltanto quando il **pH urinario è > di 6.3**. Il pH urinario non deve essere utilizzato per predire lo stato acido-basico sistemico nel vitello malato, dato che sono probabilmente presenti delle anomalie elettrolitiche sieriche, come ipokaliemia e ipocloremia, che comportano delle risultanti variazioni delle concentrazioni di potassio e cloro nell'urina (Constable P. D., 2010)

## Segni clinici associati all'ipossia e all'acidosi nel vitello neonato

Nel vitello neonato le principali manifestazioni indicative d'ipossia e acidosi sono di natura neurologica. L'insorgenza della respirazione può essere ritardata nei vitelli nati per taglio cesareo perché la  $\text{PCO}_2$  in questi animali spesso è inferiore a quella che si riscontra nei soggetti nati per via vaginale. Il vitello sano alza la testa entro pochi minuti e ben presto raggiunge il decubito sternale. Esiste un intervallo di tempo necessario per arrivare al decubito sternale (T-SR) che costituisce una valida misura della vitalità del neonato dopo il parto e risulta essere un indicatore prognostico più semplice e veloce nel caso in cui non si possa effettuare una misurazione acidobasica su un campione ematico prelevato dalla giugulare. Nei parti normali, il T-SR è pari a  $4.0 \pm 2.2$  minuti, mentre nei vitelli nati per estrazione forzata, è di  $9.0 \pm 3.3$  minuti (Grove-White D. H., 2005). Un T-SR di durata superiore a 15 minuti ha un elevato valore prognostico di morte. La presenza del tono muscolare e del riflesso podalico è indicativa di un vitello ben ossigenato con uno status acidobasico abbastanza normale. Mucose bluastre ed emorragie petecchiali a livello della sclera e della congiuntiva è indicativa di grave ipossia e acidosi e comporta una prognosi riservata. E' probabile che emorragie simili siano presenti in altre sedi come il SNC, frequentemente riscontrate all'esame necroscopico.

## Principi di rianimazione

### VIE AEREE

La priorità massima per un vitello alla nascita è assicurare la pervietà delle vie aeree dai fluidi. Allo scopo è possibile utilizzare una pompa da aspirazione introdotta nella faringe. Un metodo alternativo è quello di chiudere l'esofago con una pinza emostatica in modo da permettere la somministrazione di aria con una sonda nasale o una maschera facciale anche se la procedura non è semplicissima e il rischio che l'aria arrivi all'abomaso dilatandolo

comprimendo così i polmoni rimane. L'intubazione rimane il metodo migliore per l'insufflazione d'aria. Solitamente per un vitello neonato si possono utilizzare tubi orotracheali di 7-9 mm. Il vitello deve essere posizionato in decubito sternale con la testa tirata in avanti e verso l'alto. Per tenere la bocca aperta si può usare un apribocca e la lingua viene tirata fuori appoggiando sulla sua base la lama del laringoscopio. Ciò consente la visualizzazione della laringe e il passaggio del tubo.

## RESPIRAZIONE

Se il vitello non respira ed è stato inserito un tubo orotracheale, si deve ricorrere alla ventilazione a pressione positiva (PPV). È importante che il vitello venga tenuto in decubito sternale durante l'esecuzione di questa procedura, in modo da ventilare sia i campi polmonari di destra che di sinistra. Metodi di realizzazione della PPV prevedono l'impiego di palloni di rianimazione polmonare per uso umano (pallone di Ambu). Come già ricordato, i gas possono venire somministrati attraverso una maschera facciale (fig.1) a condizione che l'esofago sia tenuto chiuso con una pinza. Se anche la bocca viene chiusa in maniera ermetica, si può utilizzare una sonda nasale. Anche se esistono attrezzature per l'impiego di ossigeno o miscele di ossigeno per la PPV, è improbabile che queste soluzioni offrano grandi vantaggi rispetto all'uso dell'aria ambientale (l'ossigeno puro nel neonato è potenzialmente tossico). L'obiettivo primario della PPV è quello di stabilire un ritmo respiratorio piuttosto che trattare l'ipossia. Inoltre, il fluido presente all'interno degli alveoli viene assorbito al meglio quando le pressioni toraciche sono comprese fra 35-40 cm H<sub>2</sub>O, mentre pressioni intratoraciche superiori a 40 cm possono danneggiare l'epitelio alveolare (Kasari T. R., 1994; Nagy D. W., 2009).

Esistono altre innumerevoli procedure atte a stimolare i movimenti respiratori:

- Impiego di analettici respiratori. Attualmente l'unico farmaco in commercio ad uso veterinario è lo Zoolobelin<sup>®</sup> (lobelina cloridrato). È uno stimolante gangliare che esprime principalmente la sua azione respiratoria agendo sui chemiorecettori dei glomi aortici e carotidei. Ha azione bulbare solo in parte. Il suo uso potrebbe essere potenzialmente pericoloso a causa del rischio di induzioni di attacchi epilettiformi, soprattutto quando somministrato per via endovenosa.
- Impiego di adrenergici somministrati per iniezione sottolinguale quando il vitello è ancora impegnato nel canale del parto.
- Agopuntura. L'inserimento di un ago nel punto Jen Chung dell'agopuntura, a 1/3 della distanza del setto nasale. Studi hanno dimostrato una risposta variabile (Mee J. F., 1994) ma si ritiene che in alcuni vitelli possa essere utile e si suggerisce l'impiego da parte degli allevatori (Grove-White D. H., 2005; Nagy D. W., 2009).
- Utilizzo di acqua fredda versata sulla testa e nell'orecchio (circa 5 L a una temperatura di circa 5 °C) subito dopo la nascita sembra aumentare il volume tidale e diminuire la resistenza polmonare totale (R<sub>L</sub>) (Uystepuyst C. H., 2007).
- Sospensione del vitello per gli arti posteriori. Questa manovra facilita l'espulsione dei liquidi fetali ma non va prolungata oltre i 90'' altrimenti i visceri addominali rischiano di comprimere i polmoni.
- Energica frizione del torace con la paglia e tentativi di indurre una pressione intratoracica negativa "pommando" il torace con gli arti anteriori e l'arco costale mentre il vitello si trova in decubito laterale. Questi esercizi sono raccomandati soltanto in assenza di ogni altro mezzo di rianimazione.

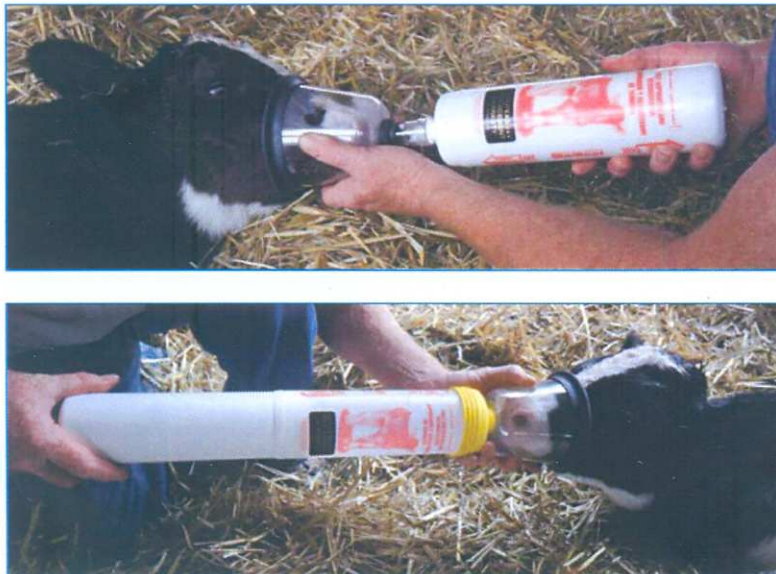


Fig.1 Mc Colloch calf resuscitator. La foto in alto mostra come viene insufflata aria, mentre la foto in basso mostra come si possano aspirare i fluidi (Dairymac copyright)

## CIRCOLAZIONE

Nell'ambito della rianimazione del vitello neonato, il termine "circolazione" viene utilizzato per descrivere non solo l'ipovolemia ma anche lo status acido-basico.

E' probabile che il vitello che necessita di una rianimazione soffra di una grave acidosi di tipo misto, metabolico (bassa concentrazione di bicarbonato nel plasma) e respiratorio (elevata  $PCO_2$ ). Mentre la  $PCO_2$  può diminuire soltanto come conseguenza di un miglioramento dello scambio gassoso alveolare e della perfusione tissutale, l'acidosi metabolica può essere trattata con la somministrazione di bicarbonato di sodio. L'origine dell'acidosi metabolica è principalmente rappresentata dalla produzione di acido lattico da parte dei tessuti. La neutralizzazione di questo acido attraverso la somministrazione di bicarbonato di sodio esita nella produzione di  $CO_2$  e  $H_2O$ . Quindi al fine di garantire che la  $CO_2$  non si accumuli (aggravando così l'acidosi respiratoria) è essenziale che il vitello stia respirando correttamente prima di somministrare il bicarbonato di sodio. Come già accennato, l'obiettivo di questo trattamento durante la rianimazione non è quello di correggere completamente il probabile deficit, ma piuttosto quello di correggerlo parzialmente in modo che il pH aumenti sino ad un livello tale da non essere pericoloso per la sopravvivenza ( $> 7.2$ ). L'ideale sarebbe misurare la concentrazione di bicarbonato prima del trattamento, tuttavia, il bicarbonato può essere somministrato senza rischi per via endovenosa alla dose di 1-2 mmol/Kg ai vitelli neonati in cui i segni clinici e l'anamnesi suggeriscono la probabile esistenza di un'acidosi metabolica. Si può somministrare sotto forma di un bolo di 50-100 ml di soluzione di bicarbonato di sodio all'8.4% (Berchtold J. F., 2005).

Nei vitelli in cui esiste il sospetto di emorragia durante o dopo la nascita o che mostrano una scarsa risposta alla rianimazione può essere utile l'espansione volumetrica con l'impiego di colloidali (come ad esempio una trasfusione di sangue intero bovino al dosaggio di 20 ml /Kg) e una iniezione parenterale di ferro. Queste procedure devono essere sempre prese in considerazione anche in virtù del fatto che dal momento della nascita fino alle prime 24 ore di vita, diminuisce progressivamente la conta degli eritrociti, la concentrazione di emoglobina e l'ematocrito. La causa esatta di questa anemia fisiologica non è nota, ma sono state avanzate le seguenti ipotesi: emivita più breve degli eritrociti fetali, bassa concentrazione di

eritropoietina, insufficienza di ferro o contenuto più elevato in ossigeno nel sangue arterioso del neonato rispetto al feto, che potrebbe inibire il midollo osseo (Uystepuyst C. H., 2007). Per evitare l'ipotermia, il metodo migliore è quello di mantenere i vitelli al caldo attraverso lampade a infrarossi. Queste, infatti, permettono un guadagno diretto attraverso l'energia radiante e un guadagno indiretto grazie all'irraggiamento riflesso dell'ambiente esposto e riscaldato dalla lampada.

## PATOLOGIE METABOLICHE E CARENZIALI

Mentre il vitello neonato sano è notevolmente resistente all'ipoglicemia, in quello ipossico esiste una potenziale situazione di pericolo, specialmente se è presente una grave acidosi. La somministrazione del colostro subito la nascita riduce la probabilità di sviluppo dell'ipoglicemia e inoltre consente il trasferimento di immunoglobuline. Se il riflesso della suzione è scarso, in alternativa il glucosio può essere somministrato per via endovenosa sottoforma di soluzione al 10% alla dose di 3.5 ml/Kg (Grove-White D. H., 2005).

Tra le turbe carenziali va ricordata la deficienza di piridossina (vit. B<sub>6</sub>). E' un evento precoce che può verificarsi alla nascita determinando eccitazione, comportamenti anomali, convulsioni. L'unica terapia efficace è la tempestiva somministrazione a dosi elevate di vit B<sub>6</sub> e delle altre vitamine del gruppo B. Nelle alterazioni del tono muscolare rientrano forme di sofferenza motoria e quindi espressione di alterazioni del sistema nervoso o dell'apparato muscolare. Condizioni d'ipertonìa sono riconducibili alle forme già citate o al tetano. La rigidità con accentuazione parossistica, spasmi tonici, è differenziabile dalle altre forme. Una terapia efficace è possibile solo in caso di diagnosi precocissima. Le ipotonie possono essere di origine primaria o secondaria, conseguenti a episodi preesistenti come gravi asfissie, lesioni endocraniche, acidosi metaboliche, diarrea. Nei casi gravi vi è assenza di suzione e quindi incapacità ad alimentarsi. La terapia mira a riequilibrare il patrimonio idroelettrico e ad apportare energia e nutrimento al fine di ripristinare l'attività muscolare. Grande beneficio si ha dalla trasfusione di sangue fresco materno, soluzioni contenenti amminoacidi essenziali e zuccheri, fosforo, vitamina k e vitamine B. Una ipotonia primaria è dovuta a carenza di vit. E e selenio (miodistrofia del vitello). Solitamente colpisce i vitelli di 4-10 settimane ma è possibile riscontrarla anche in vitelli neonati. Il neonato riceve la vitamina E e il selenio dalla madre durante l'ultimo periodo di gestazione. Madri alimentate in modo non corretto, con fieni troppo essiccati o provenienti da terreni poveri possono causare questa patologia nel vitello. Un'altra causa può essere identificata nell'alimentazione del neonato con succedanei del latte male conservati o di cattiva qualità, contenenti molti acidi grassi insaturi. La vitamina E protegge gli acidi grassi insaturi dalla distruzione e quindi si rende indisponibile o insufficiente per l'organismo. I sintomi sono sonnolenza, andatura rigida, debolezza muscolare, dorso arcuato. Si ha distruzione delle cellule muscolari con liberazione di mioglobina e quindi presenza di urine di colore rosso-marrone. Le lesioni colpiscono anche il miocardio e se il vitello non viene curato tempestivamente muore per collasso cardio circolatorio. La terapia può essere effettuata in via profilattica somministrando vit. E e selenio alle bovine durante l'ultimo periodo della gestazione là dove vi sia un sospetto di carenze alimentari oppure direttamente al vitello neonato quando si presentano singoli casi sporadici. In alternativa si possono scegliere mangimi con elevati tenori di vit. E e selenio oppure rulli di sali da lasciare a disposizione delle gestanti durante l'ultimo periodo dell'asciutta. Esistono diverse fonti di Selenio che possono venire utilizzate negli integratori:

- **Sodio selenito (Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>)**
- **Sodio seleniato (Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub>)**
- **Selenio organico**

La fonte più frequentemente inserita nei mangimi è il Sodio Selenito, mentre il Sodio Seleniato viene poco utilizzato. Il selenio **organico**, ha il vantaggio, rispetto alle due forme precedenti, di avere una *biodisponibilità decisamente superiore* (Weiss W. P., 2002). La forma organica consente di ottenere concentrazioni superiori in tutti i distretti organici, ottimizzandone gli effetti benefici. Nel complesso si ha un selenio:

- **più biodisponibile a livello intestinale**
- **più diffuso a livello ematico ed epatico**
- **passa la barriera placentare, arrivando al vitello**
- **si trasferisce nel latte**

Tutto questo rende, a parità di concentrazione, il selenio organico utilizzabile dall'animale circa 2 volte di più rispetto alle fonti inorganiche. La maggiore biodisponibilità consente di massimizzare gli effetti positivi derivanti dall'integrazione con Selenio. Questi vantaggi si fanno sentire principalmente sull'apparato riproduttore e sul sistema immunitario della bovina da latte (Gressley T. F., 2009). Come il Selenio, anche la vitamina E passa la barriera placentare e si trasferisce nel latte. Questo consente, in caso di integrazione corretta e bilanciata, da un lato di far nascere il vitello già con concentrazioni elevate e dall'altro di apportare, attraverso il colostro, tenori elevati della stessa in modo da evitare pericolose carenze.

## **II. 2 IMMUNITA' NEONATALE**

La corretta gestione della somministrazione del colostro è essenziale per il successo del trasferimento dell'immunità passiva, per prevenire le infezioni neonatali oltre a fornire al vitello un'importante fonte di energia indispensabile a colmare il bilancio metabolico negativo del vitello alla nascita.

Studi scientifici hanno dimostrato che è fondamentale l'ingestione di un quantitativo sufficiente di immunoglobuline (IgG) provenienti da un colostro igienicamente sicuro. L'ingestione del colostro deve avvenire prima possibile (entro le 12 ore di vita), dato che il completamento dello sviluppo della mucosa intestinale riduce la capacità del vitello di assorbire le IgG (Godden S., 2008). Inoltre la somministrazione del colostro deve avvenire prima che il vitello possa ingerire lettiera o altri alimenti contenenti alte cariche batteriche che possono causare setticemie, gravi stati patologici e morte.

Possiamo stimare la quantità (e quindi, il volume) di colostro di cui il vitello necessita usando la seguente formula:

$$\text{IgG sieriche (g/l)} = [\text{IgG somministrate (g)} \times \text{AEA (\%)}] / \text{volume di siero (l)}$$

(Quigley J. D., 2010)

Dove IgG somministrate = Concentrazione di IgG nel colostro (g/l) × litri di colostro somministrati; AEA = stima dell'efficienza nell'assorbimento di IgG da parte del vitello (% variabile dal 20% al 35%); volume di siero (l) = stima del volume plasmatici, peso vivo × 9% p.v.

Per raggiungere la concentrazione minima di IgG sieriche indicativa dell'avvenuto trasferimento dell'immunità passiva (in genere 10 g/l a 24 ore di vita), un vitello di 40 Kg con una AEA stimata del 25%, a cui viene somministrato un colostro contenente 25 g/l di IgG dovrebbe consumare :  $10 = 25 \times X \text{ litri} \times 25\% / (40 \times 9)$ ;  $X = 5.76$  litri di colostro.

Il vitello deve quindi consumare 5.76 litri di colostro per raggiungere una concentrazione di IgG sieriche di 10 g/l a 24 ore di vita. La variabilità dell' AEA è data dalla diversa capacità del singolo vitello di assorbire le IgG, dalla variabilità della velocità di migrazione dei pool anticorpali negli spazi extravascolari e dai diversi tassi di catabolismo delle IgG per attività gluconeogenica. Questi fattori, difficili da quantificare in modo preciso, rendono più difficoltosa la determinazione della quantità di colostro da somministrare a ciascun vitello.

Sicuramente maggiore è il contenuto di IgG nel colostro, minore sarà il volume da somministrare al vitello. La somministrazione di 4l di colostro entro le 6 ore di vita (anche con l'ausilio di un sondino gastrico) rimane un metodo abbastanza efficace per garantire una sufficiente trasmissione di immunità passiva in assenza di strumenti per il controllo del colostro, ma gli allevatori devono incrementare e migliorare la gestione della raccolta dati all'interno dell'azienda. Le conseguenze delle carenze manageriali sono alti tassi di FPT (*Fallimento della Trasmissione Passiva*), morbilità e mortalità neonatale elevate. Un management del colostro richiede protocolli scritti, in modo tale da istruire adeguatamente il personale. Molti dei test utilizzati fin'ora in azienda per la valutazione del colostro, sono basati su osservazioni qualitative: colostrometro, aspetto e volume del colostro. E' ormai noto che l'aspetto visivo (colore, volume e densità) ha scarsa relazione con la concentrazione di IgG nel colostro, influenzata invece in modo più significativo dal numero di lattazioni delle bovine e dalla razza (Morin D. E., 2001). Il colostro di Frisona contiene in media meno di 50 g/l di immunoglobuline, spesso suggerita come concentrazione minima necessaria a per il raggiungimento di una adeguata immunità passiva (Keohe S. I., 2007; Gulliksen S. M., 2008). Attualmente, uno studio ha confermato la correlazione che esiste tra la quantità di IgG nel colostro al momento della nascita e al momento della prima mungitura. La quantità di IgG diminuisce del 3.7% ad ogni ora successiva il parto (Morin D. E., 2010). Questo studio evidenzia inoltre come il fotoperiodo non influisca sulla concentrazione delle IgG nel colostro.

Tra gli allevatori, si è diffuso, come pratica gestionale, lo stoccaggio del colostro refrigerato o congelato. Questa pratica può risultare molto utile se si effettua una misurazione della concentrazione delle IgG colostrali **più precisa possibile**. Recentemente si è dimostrato che il rifrattometro BRIX è in grado di rilevare la concentrazione di IgG colostrali con maggiore precisione rispetto al colostrometro o ad altri rifrattometri classici (Dinsmore P., 2008; Biemann V. J., 2010). Questo strumento misura i BRIX (ovvero le particelle solide totali presenti in liquidi di varia natura) e per anni è stato utilizzato per testare il colostro equino. Gli studiosi hanno fissato come valore standard 22% BRIX per colostri provenienti da pluripare e 21% BRIX per colostri provenienti da primipare (Quigley J.D., 2010).

Si raccomanda di non conservare il colostro a 4 ° C per più di 48 ore per non favorire la proliferazione della salmonella (Houser B. A., 2008). Bisogna effettuare un rapido abbattimento della temperatura prima della refrigerazione o del congelamento per bloccare la replicazione della flora microbica. Al contrario bisogna effettuare lo scongelamento molto lentamente per evitare di distruggere le proteine e i leucociti vitali che potrebbero contribuire al trasferimento delle IgG. Conservare quantità di colostro refrigerato o congelato può essere anche utile per miscelarlo al latte di mungitura o a quello in polvere per garantire al vitello anche una immunità locale (IgA, IgM) a livello di mucosa intestinale. In questo modo si potrebbero così evitare quelle pratiche gestionali che prevedono l'aggiunta di antibiotici nel latte come profilassi alle diarree neonatali e i fenomeni di antibiotico resistenza.

Considerato che non esistono ancora tantissime metodiche semplici e a basso costo per testare la concentrazione delle IgG nel colostro, risulta ancora più essenziale il monitoraggio del trasferimento dell'immunità passiva sul siero del vitello neonato. In questo caso esistono diversi test rapidi o test a costi abbastanza accessibili per l'allevatore:

Solo il 2.1% degli allevatori testa il siero dei vitelli neonati per determinare il numero di vitelli con FPT (ricerca Dairy, 2007).

Tra le tecniche utilizzate per valutare il livello di immunoglobuline nel siero di vitello troviamo:

- test della coagulazione della gluteraldeide. Inadeguato rispetto altri test in commercio
- tecnica della rifrattometria delle proteine sieriche che pone come cut-off 5.2 mg/dl di IgG sieriche. Misura la concentrazione totale dei solidi nel siero. E' forse il metodo più comodo da poter applicare direttamente in campo in quanto non richiede un laboratorio attrezzato. Nell'interpretazione dei risultati si deve tenere conto però dello stato d' idratazione dei vitelli. La disidratazione può determinare un notevole aumento della concentrazione di proteine determinando così dei falsi-positivi (Cardelli M., 2005)
- test di torbidità in solfito di sodio e torbidità in solfato di zinco dove il cut-off solitamente è posto a 1000 mg/ml (equivalente a 5.2 mg/dl della rifrattometria). Misurano la concentrazione totale delle proteine sieriche (Dawes M. E., 2002). Il test in solfito di sodio risulta essere migliore rispetto al test in solfato di zinco che presenta maggiori falsi positivi (Feldman B. F, 2006)
- tecnica dell'immunodiffusione radiale (RID), considerata la migliore in quanto misura direttamente la concentrazione delle IgG utilizzando anticorpi specifici (Ameri M, 2008). Il cut-off è sempre posto a 1000 mg/ml di IgG
- kit rapidi ELISA "on site". Più pratici e accurati del rifrattometro ma più costosi.

## **Sostitutivi del colostro**

Sono disponibili sul mercato sostituti del colostro che contengono almeno 100 g di IgG da somministrare al posto del colostro materno. Questi prodotti sono ottenuti da pool di colostri provenienti da bovine donatrici o da plasma bovino altamente frazionato. L'evoluzione delle tecniche di raccolta e processazione sono molto migliorate e non influiscono sull'AEA (Jones C. M., 2004; Campbell J. M., 2007). Studi recenti hanno dimostrato che un numero significativo di vitelli alimentati con sostituti del colostro hanno sviluppato un'adeguata immunità passiva (Godden S. M., 2009). Altri studi hanno dimostrato che la somministrazione di sostituti del colostro diminuisce la trasmissione di patologie economicamente importanti come il morbo di Johne (Pithua P., 2009). Dato che il colostro è vettore di agenti patogeni, l'impiego di sostituti può essere un mezzo utile nella riduzione dell'incidenza di patologie neonatali. E' importante ricordare che la normativa europea impone che i sostituti del colostro siano BVL- free (non devono contenere anticorpi contro il virus della leucosi poiché in Europa è prevista l'eradicazione).

In commercio esistono anche lattosieri bovini prodotti da vacche iperimmunizzate contenenti immunoglobuline G specifiche contro colibacilli, rotavirus e coronavirus. Questi prodotti, concentrati in piccoli volumi (60 ml circa) risultano molto utili nei casi in cui vi siano vitelli con scarso riflesso della suzione. In ogni caso possono essere anche diluiti nel colostro o nei sostituti del colostro.

## **Colostro fermentato e bicarbonato**

L'utilizzazione di colostro fermentato (con l'ausilio di *starter*) rappresenta una valida soluzione manageriale, in quanto i lattobacilli possono conservarlo sino a 30 giorni circa. Studi hanno dimostrato che aggiungendo sodio bicarbonato al colostro fermentato nella quantità di 7.3 g/Kg si ha un aumento dell'assorbimento de immunoglobuline rispetto al

colostro privo di tampone (Esmail S. H. M., 2001). Inoltre l'aggiunta di bicarbonato riduce l'incidenza di contrarre patologie in quanto si ha un innalzamento del pH con conseguente attività batteriostatica. In queste condizioni la lattoferrina (proteina presente nel colostro) si troverebbe in condizioni ottimali per legarsi al ferro, rendendo questo elemento indisponibile per la crescita dei batteri. Con la fermentazione è possibile anche recuperare latte di scarto o mastitico da somministrare come alimento di mantenimento per vitelli di circa 5 settimane di età fino allo svezzamento (Loveland J., 1983).

### **Colostro pastorizzato**

Una tecnica maggiormente efficace per ridurre la carica dei patogeni presenti nel colostro è la pastorizzazione (Stabel J. R., 2008). La tecnica prevede metodiche diverse. Il colostro può essere scaldato a una temperatura di 63° C per 30 minuti e poi lasciato raffreddare oppure a una temperatura di 72° C per 15 secondi. L'inconveniente della pastorizzazione è che una buona parte delle immunoglobuline vengono distrutte e i vitelli rischiano di non ricevere un'adeguata quantità di immunoglobuline. Il problema principale consiste forse nel mantenere in piena efficienza l'apparecchiatura di pastorizzazione, in modo da mantenere la corretta temperatura per il corretto periodo di tempo. Il colostro di partenza deve essere un colostro di qualità (quindi ancora una volta risulta importantissimo poter valutare il contenuto di IgG correttamente) con l'obiettivo di avere una concentrazione iniziale di immunoglobuline > 60 g/l. Inoltre l'ideale sarebbe pastorizzare piccole quantità alla volta (massimo 57 litri) e tenere sotto controllo le concentrazioni sieriche di Ig nei vitelli (Cardelli M., 2005).

## **II.3 PATOLOGIE DALL'APPARATO GASTROENTERICO**

### **La diarrea neonatale e principali agenti patogeni**

Le affezioni gastrointestinali sono il problema più frequente nell'allevamento del vitello da latte, con un'incidenza che può arrivare fino al 65% per gli animali nelle prime due settimane di vita (Cavirani S., 2002). Le perdite economiche sono notevoli, sia in termini di perdite dirette (mortalità), sia indirette (ritardo di crescita, problemi riproduttivi e presenza di animali con patologie croniche). Tra le patologie gastrointestinali un ruolo predominante è ricoperto dalla gastroenterite che si manifesta nella diarrea neonatale. La diarrea, ossia l'emissione frequente di feci liquide (contenuto di sostanza secca inferiore al 10% rispetto al 25% circa di un vitello sano) è un sintomo non patognomonico e riconosce molteplici cause differenti. Tali cause possono essere associate e, quindi, l'eziologia può essere considerata "multifattoriale". L'incidenza di questa patologia è stimata tra il 15% e il 20% con una mortalità tra 1,5% e 8% (Lorino T., 2005). Ai fini della diagnosi si può parlare di un "complesso" della diarrea del vitello, perché esiste un'interazione tipica tra animale, agente eziologico e ambiente (gestione aziendale) (Constable. P. D., 2010). Prendendo in considerazione le principali e più frequenti affezioni dell'apparato gastroenterico del vitello, affronterò le cause infettive e alcune patologie caratteristiche del periodo compreso tra la nascita e le prime tre settimane di vita. Diversi agenti patogeni possono essere all'origine di diarrea nel giovane vitello e gli agenti causali possono susseguirsi nel tempo in uno stesso animale. I patogeni sono abitualmente presenti nell'ambiente in cui vivono gli animali o sono ospitati e trasmessi dagli animali stessi (malati, convalescenti, in incubazione o portatori sani) o dalle madri. Durante la stagione dei partì la concentrazione ambientale aumenta progressivamente in quanto i primi vitelli

fungono da amplificatori. L'aumento della pressione infettiva (soprattutto in caso di infezioni miste), associata a fattori favorenti, porta ad uno scadimento delle condizioni generali dei vitelli e alla comparsa di vere e proprie epizozie di gastroenteriti neonatali.

I patogeni infettivi più frequenti nel vitello e quelli meglio conosciuti, sono riassunti nella tab.1

AGENTE CAUSALE		ETA' VITELLO
<i>Escherichia coli</i>	ETEC (enterotossigeni)	< 5 gg
	VTEC (verotossigeni) o STEC (Shiga like-toxin)	1-3 settimane
	EPEC (enteropatogeno) o AEEC (attaching and effacing)	1-3 settimane
<b>Rotavirus</b>		1-14 gg
<b>Coronavirus</b>		5- 30 gg
<b>Salmonella</b>	<i>S. typhimurium</i> e <i>dublin</i>	> 7 gg
<b>Clostridium</b>	<i>C. perfringens</i> e <i>difficile</i>	< 15 gg
<i>Cryptosporidium parvum</i>		1- 28 gg
<b>BVDV</b>		

Tab.1 principali patogeni gastroenterici nel vitello neonato

## E. COLI

Probabilmente il principale agente patogeno per i vitelli e uno dei più letali poiché colpisce nei primissimi giorni di vita, quando gli animali sono estremamente sensibili alle aggressioni, soprattutto se non adeguatamente protetti attraverso il colostro. Il genere *Escherichia* appartiene alla famiglia delle enterobatteriaceae, la quale comprende un vastissimo numero di batteri. I patotipi di colibacilli in grado di provocare diarrea nei vitelli sono:

- ETEC enterotossigeni
- EPEC enteropatogeni
- VETEC verotossigeni

I coli enterotossigeni (ETEC) elaborano due diverse tossine (termolabile TL e termostabile STa), costantemente associate alla presenza di antigeni di colonizzazione F4 (ex K88) o F5 (ex K99). Gli ETEC contaminano il vitello subito dopo la nascita attraverso la via alimentare o il cordone ombelicale e colonizzano a livello intestinale. In rapporto all'età dei soggetti colpiti e ai sierotipi che intervengono possiamo riconoscere tre forme di colibacillosi: *setticemica*, *enterotossiemia* ed *enterica*.

I ceppi ETEC che causano setticemia sono quindi differenti da quelli che provocano diarrea. La setticemia compare nei primissimi giorni di vita, assume un andamento acuto e si conclude spesso con la morte. I fattori patogenetici che intervengono nel determinismo dell'infezione sono legati a particolari sierotipi e alla carenza di immunoglobuline, in particolare IgM, responsabili della protezione umorale attraverso un'azione battericida di tipo specifico. Questi coli, oltre a moltiplicarsi a livello intestinale, diffondono nell'organismo attraverso il torrente circolatorio dove le endotossine sono responsabili delle manifestazioni di tipo anafilattico. Nelle manifestazioni a evoluzione più lenta si osservano poliartrite e meningite letale.

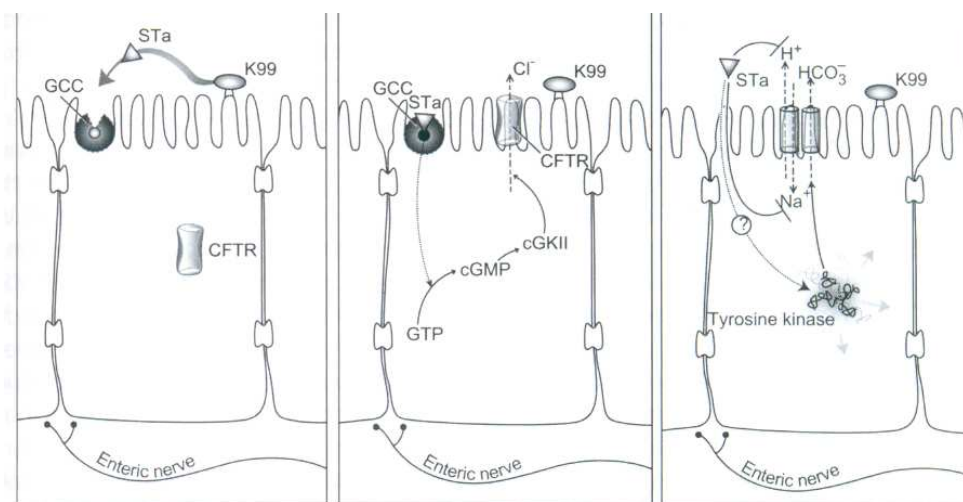
La patogenesi della diarrea da ETEC comprende l'ingestione di batteri F5 dall'ambiente, dal colostro o dal latte. Il pH gastrico, ancora neutro, consente ai coli di arrivare nel piccolo intestino, dove colonizzano raggiungendo elevate concentrazioni ( $10^7 - 10^8/g$ ). Gli ETEC aderiscono ai villi del tenue attraverso le fimbrie che si attaccano ai recettori delle cellule epiteliali. L'attacco assicura che i batteri rilascino la tossina STa termostabile, responsabile dell'alterazione degli equilibri idroionici delle cellule intestinali (fig. 2). L'animale in poco tempo manifesta diarrea e disidratazione e la gravità dei sintomi viene accentuata con l'eventuale concomitanza di agenti virali quali Rota-Coronavirus. La diagnosi definitiva della causa di diarrea richiede l'individuazione del ceppo E. coli F5 (ETEC) e delle lesioni istologiche caratteristiche (morfologia normale e grappoli di bastoncelli Gram-negativi) (Constable P. D., 2010).

Gli *Escherichia coli* enteropatogeni (EPEC) provocano lesioni istologiche caratteristiche e per questo vengono denominati anche *attaching and effacing E. coli* (AEEC). Questi patogeni hanno la capacità di infettare le cellule epiteliali intestinali con un meccanismo particolare di adesione (BFP bundle-forming pili, EspA filaments, Intimin) provocando le lesioni caratteristiche chiamate "AE *attaching and effacing*", costantemente associate a un'iniziale distruzione dei microvilli. Successivamente si ha una modificazione della morfologia della membrana cellulare e della struttura del citoscheletro al di sotto dell'area di adesione. La sofferenza cellulare e la perdita di superficie assorbente da parte degli enterociti provocano un'abnorme secrezione di fluidi e diarrea.

I coli STEC (*Shiga like-toxin E. coli* o coli enteroemorragici) vengono così denominati in seguito alla loro capacità di produrre due tipi di tossine (Stx1 e Stx2) simili a quelle di Shighella. La malattia si manifesta a carico dell'intestino crasso dopo un periodo di incubazione di 3-4 giorni durante i quali inizia a comparire una diarrea non sanguinolenta. Circa al terzo giorno compaiono forti dolori addominali accompagnati da enterite emorragica. L'attenzione della ricerca scientifica nei riguardi di questi patogeni è soprattutto da porre in relazione al rischio zoonosico del sierotipo O157:H7, che nell'uomo determina la sindrome emolitica e uremica del bambino di età inferiore a cinque anni (SHU).

Per quanto riguarda la diagnosi di E coli è possibile identificare la presenza dell'antigene F5 con test ELISA, immunofluorescenza ed agglutinazione. Più complicata è l'individuazione di coli enteroemorragici ed enteropatogeni poiché sono richiesti specifici probes genici per fattori tossici e di adesione del batterio.

Fig. 2 Meccanismo patogenetico della tossina STa



## ROTAVIRUS

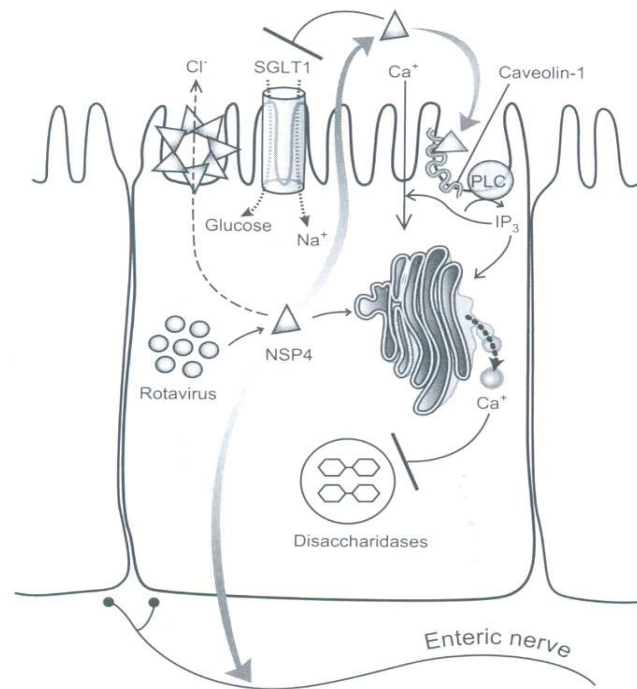
Le infezioni da rotavirus sono altamente diffuse nell'allevamento bovino e sono caratterizzate da elevata morbilità e bassa mortalità, con una prevalenza del 27% circa (Alborali L., 2006, Mayameei A., 2009).

Il genere Rotavirus appartiene alla famiglia delle Reoviridae ed è suddiviso in 7 sierogruppi, di cui il gruppo A sembra essere il più numeroso e maggiormente coinvolto nella diarrea neonatale bovina. Il virus, assunto per ingestione (ciclo oro-fecale), si localizza prevalentemente nelle cellule apicali dei villi del piccolo intestino alle quali aderisce per la presenza di specifici recettori di superficie. Successivamente il virus entra nella cellula attraverso la membrana citoplasmatica e nel citoplasma avviene la replicazione per mezzo della trascrittasi virale. La replicazione provoca lisi progressiva delle cellule cilindriche, che vengono sostituite da cellule cuboidi. Il fenomeno sembra essere interpretato come un meccanismo di protezione, in quanto queste ultime cellule mancano dei recettori specifici per il virus, facendo sì che l'infezione sia autolimitante. L'evoluzione patogenetica potrebbe trovare spiegazione nella sostituzione di cellule altamente differenziate da parte di cellule immature, le quali, in corso di diarrea, accelerano la loro migrazione verso l'apice dei villi, restando però indifferenziate. Secondo recenti studi, inoltre, la proteina virale non strutturale NSP4 sarebbe dotata di un'azione enterotossica capace di indurre diarrea secretoria con elevata produzione di ossido nitrico (NO) (Borghan M. A., 2007). Questo determina difetti di trasporto di calcio intracellulare ed escrezione di cloro, oltre alla presenza di zuccheri non digeriti nel lume intestinale. Conseguono aumento della pressione osmotica nel lume con richiamo di liquidi, diarrea e disidratazione (fig. 3) In definitiva le alterazioni della mucosa intestinale, indotte dai rotavirus, ne modificano le attività specifiche e favoriscono l'assorbimento dei metaboliti tossici derivanti dalle fermentazioni degli idrati del carbonio, alla quale spesso concorrono anche patogeni secondari, quali *E. coli* e *Salmonella* (Arnaudo F. 2009).

Nei vitelli infettati dal gruppo A, la diarrea compare soprattutto tra i 4 e i 14 giorni di età, dopo un periodo di incubazione di 48-72 ore. Questa predilezione d'età è dovuta al fatto che le bovine secernono anticorpi contro i Rotavirus nel colostro, in particolare se vaccinate nell'ultimo periodo dell'asciutta. Questi anticorpi conferiscono una protezione locale contro l'infezione che viene meno quando i livelli nel latte declinano o quando si passa al latte in polvere (dopo 48-72 ore dalla nascita circa). Il decorso varia da quattro a otto giorni, con un tasso di mortalità che raggiunge il 50% solo in concomitanza con altri agenti virali (Coronavirus), batterici (*E. coli.*, *Salmonella*), e parassitari (*Cryptosporidium*). Gli animali si mostrano anoressici, depressi, disidratati ed emettono feci liquide di colore solitamente bianco-giallastro, mentre l'ipertermia è intermittente o assente. Solo gli esami di laboratorio possono fornire una diagnosi eziologica certa, in quanto sia la sintomatologia clinica che il quadro anatomopatologico non permettono una differenziazione da altre enteropatie.

I test di laboratorio più usati sono rivolti ad evidenziare il virus nelle feci e tra questi oggi i test ELISA diretti rappresentano un metodo rapido e di uso corrente anche nella pratica buiatica di campo. La diagnosi necroscopica con, l'ausilio dell'istologia, volge ad identificare le lesioni intestinali tipiche dell'infezione.

Fig. 3 Meccanismo patogenetico di NSP4 nel determinismo della diarrea secretoria con escrezione di cloro e ridotto assorbimento del sodio e del glucosio. Si ha inoltre incremento di calcio intracellulare e stimolazione dei nervi enterici.



## CORONAVIRUS

I coronavirus bovini fanno parte della famiglia Coronaviridae, genere Coronavirus, gruppo II. Sono dotati di elevata specie-specificità, di un tropismo piuttosto ristretto verso determinati tessuti e sono responsabili di forme cliniche differenti: la winter dysentery nei bovini adulti, le forme respiratorie e la diarrea neonatale nei vitelli. Quest'ultima interessa tipicamente animali tra i cinque e i trenta giorni di vita con una prevalenza non altissima, che varia tra 3%-10%, (Alborali L., 2006).

Si sviluppa circa 48 h dopo l'infezione e continua per tre- sei giorni. La sintomatologia clinica è simile alla diarrea da rotavirus con anoressia, abbattimento, disidratazione ed emissione di abbondanti feci liquide giallastre spesso associate a ipertermia. Il virus si localizza nelle cellule del piccolo intestino e nelle cellule di rivestimento del colon. L'assorbimento avviene mediante una proteina transmembrana (S) e un'emoagglutinina (HE) con successiva fusione dell'envelope e liberazione nel citoplasma dell'RNA genomico. La formazione delle particelle virali complete avviene a livello delle vescicole del RER e dell'apparato del Golgi e infine i virus escono dalla cellula per fusione delle vescicole del Golgi con la membrana cellulare, oppure nei ceppi citopatogeni, per lisi cellulare o per formazione di sincizi. Le cellule infettate muoiono, si staccano e vengono rimpiazzate da cellule immature. Nel piccolo intestino questi cambiamenti portano a ipertrofia e fusione dei villi adiacenti, mentre nel grosso intestino si assiste a un progressivo appiattimento. Le cellule colonnari vengono rimpiazzate da cellule cuboidi o squamose o in altri casi più gravi, a differenza dell'infezione da rotavirus, si possono trovare aree di desquamazione completa. Questo porta a una riduzione della superficie assorbente dell'intestino e a un aumento di liquidi e di zuccheri indigeriti nel lume. L'accumulo del lattosio indigerito causa uno squilibrio osmotico e un

aumento dell'attività microbica intestinale. Il risultato finale è la diarrea la cui gravità varia in base all'età e allo stato immunitario dell'animale, alla carica virale infettante o a eventuali sovrainfezioni batteriche. La morte può sopraggiungere per shock acuto e arresto cardiaco in seguito alle conseguenze della disidratazione. La malattia è prevalente durante i mesi invernali, come la rotavirus, per l'elevata capacità del virus di sopravvivere a basse temperature e può presentarsi negli anni successivi, in quanto questo virus rimane infettante nell'ambiente di anno in anno. Inoltre gli animali adulti persistentemente infetti rappresentano un ottimo serbatoio virale e agiscono come importante fonte infettante soprattutto dopo il parto.

La diagnosi di coronavirus non può basarsi sui segni clinici in quanto aspecifici. Così come per i rotavirus, vengono largamente utilizzati i test ELISA su campioni fecali grazie all'utilizzo di anticorpi monoclonali. In alternativa si può fare ricorso all'esame istologico della mucosa del digiuno prelevata in sede autoptica. In genere rotavirus, coronavirus ed *E. coli* F5 vengono ricercati contemporaneamente, in quanto sovrapponibili clinicamente e responsabili della maggior parte delle infezioni gastroenteriche.

### CRYPTOSPORIDIUM

A questo genere di protozoi appartengono diverse specie in grado di parassitare mammiferi, uccelli, rettili, pesci e uomo. E' a tutti gli effetti agente di zoonosi a cui sono maggiormente soggetti gli individui immunodepressi.

Nei ruminanti tre specie sono attualmente riconosciute come comuni cause di infezione: *Cryptosporidium parvum* è quella maggiormente studiata e colpisce i vitelli neonati, con una prevalenza che può anche arrivare a 30%-35% (Duranti A., 2008) colonizzando l'ileo e la porzione prossimale del grosso intestino. Questi parassiti invadono gli enterociti della porzione distale del piccolo intestino e del grosso intestino e causano atrofia dei villi e/o loro fusione con successive reazioni infiammatorie della mucosa. Si ha perdita della funzionalità della barriera intestinale, malassorbimento e fermentazione del latte in digerito nel lume. Sembra che questi protozoi posseggano un'attività enterotossica capace di indurre anche una diarrea secretoria, anche se questo meccanismo non è del tutto chiaro. Il ciclo vitale dei *Cryptosporidium* è complesso e presenta sia una fase di riproduzione asessuata che una sessuata. A differenza dei coccidi del genere *Eimeria*, le oocisti (4.8-5.6  $\mu$ ) si presentano nel lume intestinale già completamente sporulate e può così verificarsi un'autoinfezione. Il vitello ingerisce le oocisti infettanti e si ha la liberazione nel lume degli sporozoiti, che invadono le cellule apicali dell'epitelio intestinale senza entrare nel citoplasma (fig. 4). Successivamente questi parassiti si trasformano in trophozoiti che si riproducono in modo asessuato, originando schizonti di tipo I. Gli schizonti di tipo I contengono i merozoiti che invadono altre cellule epiteliali per ripetere nuovamente questo ciclo di riproduzione asessuata. A questo punto vengono prodotti due tipi di schizonti: gli schizonti di tipo I che continueranno il ciclo di riproduzione asessuata e gli schizonti di tipo II, che differenziandosi in microgameti maschili e microgameti femminili, daranno luogo al ciclo di riproduzione sessuato. In questo ciclo vengono prodotte oocisti con parete spessa e oocisti con parete sottile: le prime sono estremamente resistenti e vengono liberate nell'ambiente con le feci, mentre le seconde perdono la loro parete direttamente nell'intestino e provocano l'autoinfezione. Le oocisti liberate nell'ambiente sono molto resistenti ai comuni disinfettanti e ai livelli standard di clorazione delle acque quindi possono rimanere vitali e infettanti anche per diversi mesi, soprattutto in un clima umido e fresco.

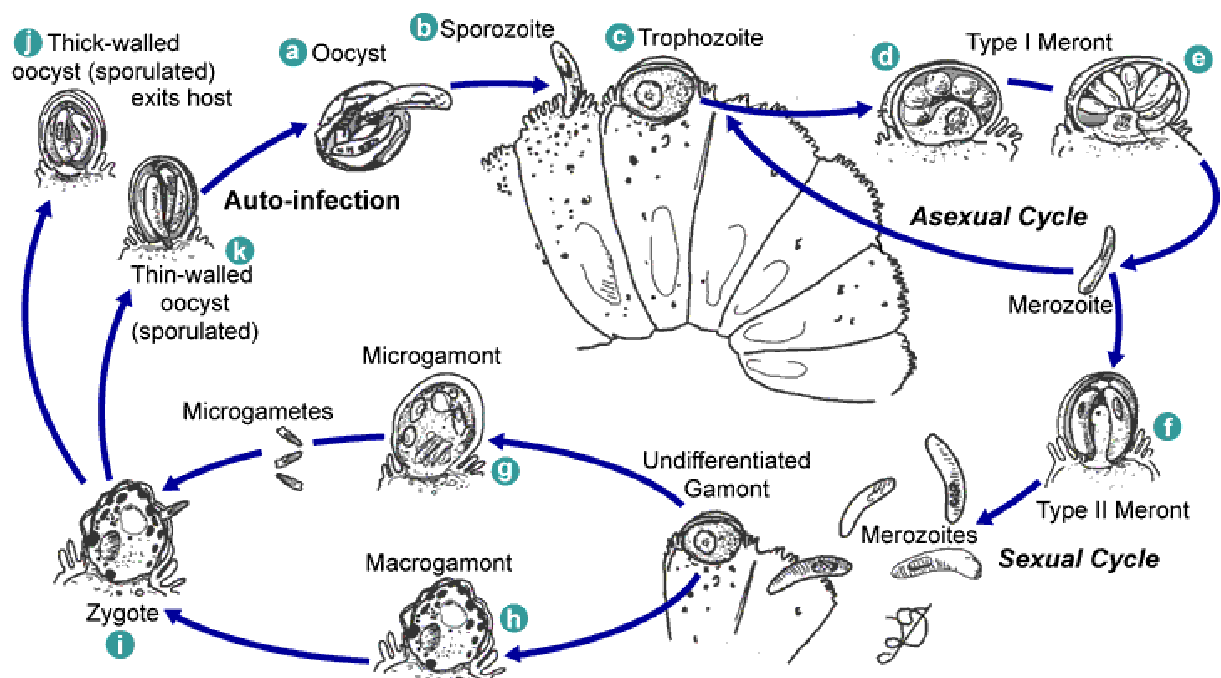
I segni clinici della criptosporidiosi diventano evidenti tra i 3-5 giorni di età e sono sovrapponibili alle infezioni da rota-coronavirus e colibacillosi. L'atrofia e la fusione dei villi, oltre all'iperplasia delle cripte, portano a malassorbimento per perdita di superficie

adsorbente, con conseguente alterazione dei meccanismi di trasporto dei nutrienti e degli elettroliti. Rilevante sembra essere l'acidosi e la perdita di vitamina A che può portare a ipovitaminosi. La diarrea e la disidratazione, in genere di lieve entità, sono aggravate da concomitanti infezioni virali e batteriche, dall'età e dallo stato sanitario degli animali.

La criptosporidiosi è una malattia autolimitante, la cui durata, in genere, non supera le due settimane; i vitelli infatti sviluppano un'immunità contro il parassita che risulta efficace nel proteggerli da ulteriori infezioni ed è stato inoltre dimostrato che la gravità della malattia associata al primo contatto con il patogeno risulta sempre minore all'aumentare dell'età degli animali. Il rischio della prevalenza della malattia sembra aumentare nelle aziende dove i vitelli vengono separati troppo precocemente dalla madre e inseriti in box individuali e dove si utilizza il latte ricostituito piuttosto del latte di mungitura pastorizzato (Trotz-Williams L.A. 2008, Duranti A., 2008). Questo perché l'immunità materna passiva trasmessa dal colostro e dal latte conferisce una protezione al neonato proprio nel periodo di maggiore patogenicità del parassita.

Il metodo standard per rilevare la presenza di *Cryptosporidium parvum* è l'analisi coprologica con ricerca delle oocisti. In genere si ricorre a flottazione in soluzioni sature di zucchero e acqua (Soluzione di Scearer) al fine di concentrare le oocisti, le quali possono essere colorate con la tecnica di Ziehl-Neelsen o colorazione negativa con la carbol-fucsina (Arnaudo F., 2009, Alborali L., 2006). Accanto a queste metodiche poco costose, ma che richiedono attrezzature di laboratorio e operatori esperti, vi sono i kit ELISA e una nuova tecnica immunocromatografica (Dip-stick) che consentono una rapida diagnosi in campo. L'immunofluorescenza e la PCR sono poco utilizzate per i costi maggiori e la richiesta di laboratori specializzati.

Fig. 4 Ciclo vitale di *Cryptosporidium parvum*



(Strickland GT, editor. Hunter's Tropical Medicine and Emerging Infectious Diseases, 8th ed. Philadelphia: WB Saunders; 2000.)

## SALMONELLA

Appartenenti alla famiglia delle enterobatteriaceae, le salmonelle sono batteri Gram<sup>-</sup> che possiedono antigeni somatici O termostabili, di natura polisaccaridica, localizzati nella parete cellulare, poco specifici, e antigeni flagellari H termolabili, di natura proteica, altamente specifici per il genere Salmonella. Il serbatoio di questo batterio è rappresentato dall'intestino di tutti gli animali a sangue caldo e a sangue freddo; possono sopravvivere per oltre nove mesi nell'ambiente, soprattutto nei terreni umidi, nell'acqua, nel materiale fecale e negli alimenti per animali. I segni clinici si possono vedere in vitelli di 5- 28 giorni di età e includono febbre, calo dell'appetito, abbattimento e feci contenenti abbondante muco e sangue. L'infezione è pressoché grave, caratterizzata da alta mortalità e segue a un lungo periodo di ricovero degli animali. Spesso si hanno infezioni acute seguite da morte immediata. La febbre può persistere anche per una settimana post-infezione mentre l'assenza potrebbe non escludere la presenza di salmonella in quanto nei casi gravi, che precedono la morte, spesso si osserva ipotermia (Mohler V. L., 2009). Si sono inoltre osservate differenze nel tipo di infezione a seconda del sierotipo coinvolto. *Salmonella enterica* sierotipo *typhimurium* (agente di zoonosi) sembra essere responsabile di infezioni enteriche nei vitelli di età inferiore ai due mesi mentre *Salmonella enterica* sierotipo *dublin* è riscontrabile nelle infezioni sia di vitelli giovani che di animali adulti. *S. dublin* è maggiormente invasiva rispetto a *S. typhimurium* e nelle manifestazioni patologiche dei vitelli include meningoencefaliti, artriti settiche, problemi respiratori e gangrena necrotica alle estremità degli arti. Fra i diversi ceppi di *S. typhimurim* isolati dal bovino, quello che desta maggiore interesse e preoccupazione è il fagotipo "Definitive Type" (DT) 104, per le caratteristiche di resistenza a molti antibiotici, la gravità della sintomatologia che causa negli animali e nell'uomo e la capacità di diffondersi nelle popolazioni animali (Barberio A., 2007).

Le fonti di infezione di *S. dublin* sono rappresentate principalmente dai portatori sani e dai bovini adulti persistentemente infetti, che liberano salmonella per lunghi periodi nelle feci; molto frequenti sono anche i portatori non escretori che possono però diventare escretori in seguito a stress, malattie intercorrenti e parto (*S. dublin* può anche essere causa di aborto nella vacca dal sesto-settimo mese di gestazione, senza dare altri segni clinici). L'abbandono in corsi d'acqua di feti abortiti e relativi invogli, nonché di liquami non bonificati, determina il trasporto a distanza delle salmonelle. Altre fonti (specie per *S. typhimurium*) sono i mangimi e i foraggi contaminati, roditori, volatili selvatici, lettiera e corsi d'acqua contaminati. La trasmissione oro-fecale è la via principale di infezione, anche se il contagio è possibile anche attraverso il tratto respiratorio e la congiuntiva. Dopo l'ingestione, le salmonelle colonizzano il tratto intestinale ed invadono gli enterociti, i tessuti linfoidei e le tonsille. La presenza delle fimbrie costituisce un fattore determinante per l'insediamento nel tratto distale del tenue e del colon. I microrganismi invadono inizialmente l'apice dei villi senza indurre danni apparenti nelle cellule, che risultano alterate solo nelle ultime fasi dell'infezione. Successivamente si moltiplicano, infettando altre cellule o raggiungono la lamina propria dove vengono fagocitati e convogliati verso i linfonodi regionali. Le prostaglandine, rilasciate in seguito alla risposta infiammatoria, attivano la adenocicliasi con passaggio di acqua, bicarbonato e cloro nel lume intestinale (fig. 5). La reazione infiammatoria determina inoltre il rilascio di sostanze vasoattive che aumentano la permeabilità dei vasi della sottomucosa consentendo la fuoriuscita di liquidi e causando una diarrea secretoria. In aggiunta a questo fenomeno compaiono ileite e colite con intensa infiltrazione di neutrofili nella zona centrale dei villi. I neutrofili si ritrovano anche nelle feci e tale reperto assume significato diagnostico. La patogenesi della setticemia è correlata agli effetti indotti da un'endotossina, identificabile nella componente lipidica del polisaccaride di parete. Tale componente è responsabile di febbre, emorragie associate a carenza di fattori

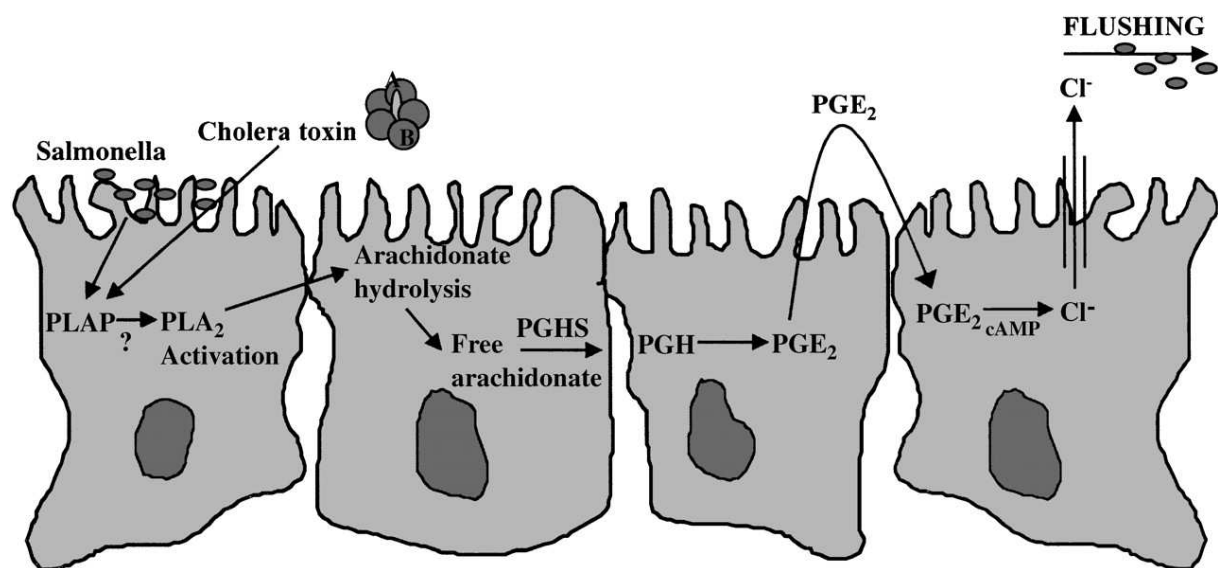
della coagulazione, leucopenia, ipotensione e shock spesso fatale, diminuzione del glicogeno epatico e quindi ipoglicemia.

Ai fini della diagnosi, riveste fondamentale importanza l'isolamento delle salmonelle dal sangue nelle forme setticemiche, dalle feci o dal contenuto intestinale nelle forme enteriche, dal feto o dai relativi annessi in caso di aborto. Nell'animale deceduto l'esame batteriologico si deve estendere agli organi interni (milza, fegato, gangli meseraici), alle lesioni polmonari, alle articolazioni e alla bile. L'isolamento prevede l'utilizzo di terreni di arricchimento selettivo come il Rappaport-Vassiliadis e successiva tipizzazione con prove sierologiche (Alborali L., 2006). Esistono in commercio anche test rapidi ELISA che insieme alla PCR real-time vengono proposti come metodi alternativi validi alla coltura fecale.

La salmonellosi, oltre ad essere una zoonosi, è soggetta a denuncia. Al sospetto e all'accertamento di salmonellosi è necessario informare l'autorità veterinaria competente. L'ufficio veterinario provvede al sequestro dell'allevamento e fornisce indicazioni circa trattamenti e disinfezioni.

La profilassi immunizzante trova limitazioni in ordine alla polivalenza sierologica, fatta eccezione per *S. dublin*, che è il sierotipo adattato al bovino. Si è mostrata efficace la vaccinazione delle bovine gravide allo scopo di proteggere i vitelli attraverso l'immunità passiva.

Fig. 5 Rappresentazione schematica della patogenesi della diarrea da Salmonella



*Am J Physiol Cell Physiol* 277: C351-C358, 1999

## CLOSTRIDIUM

Il genere *Clostridium* annovera bacilli anaerobi Gram<sup>+</sup> e identifica più di 300 specie che vengono tipizzate in base all'attività patogena delle tossine. Tra questi batteri quelli maggiormente coinvolti nella patologie gastroenteriche dei vitelli sono *Cl. perfringens* e *Cl. difficile*. *Cl. perfringens* riconosce cinque biotipi (A, B, C, D, E) in base alla produzione delle tossine letali maggiori. Oltre alle tossine maggiori *Cl. perfringens* produce altre tossine o

fattori minori, ad attività enzimatica ed emolitica, designati con lettere greche che oltre a contrassegnare gli effetti tossici, vengono utilizzati la definizione del biotipo.

Essendo *Cl. perfringens* un ospite abituale dell'intestino, un ampio ventaglio di fattori intrinseci ed estrinseci devono concorrere a determinare la rottura dell'equilibrio ospite-parassita e quindi a dare origine alla malattia. Questi fattori possono essere individuali e climatici, come le elevate escursioni termiche tra il giorno e la notte, l'ingestione di erba fredda o gelata, l'iperalimentazione con cereali, l'innalzamento del pH intestinale, la diminuzione degli enzimi proteolitici intestinali e pancreatici, l'alterazione dell'attività epatica. Tali condizioni sovvertono l'equilibrio tra le varie specie microbiche intestinali a favore degli anaerobi come *Cl. perfringens* che si moltiplica attivamente ed elabora tossine. Queste ultime, variando quantitativamente e qualitativamente, dopo aver superato la barriera intestinale, possono causare ulcerazioni e attraversare la mucosa raggiungendo i vasi sanguigni. Successivamente si ha l'invasione degli organi bersaglio come fegato, cuore, reni e sistema nervoso centrale. Alla tossiemia si può accompagnare batteriemia e aggravamento del quadro clinico. *Cl. perfringens* C causa principalmente malattia nei vitelli di età inferiore ai 10gg tramite la produzione di enterotossine che causano necrosi intestinale. Gli animali presentano debolezza e prostrazione e a volte si ha morte improvvisa senza presenza di sintomatologia clinica. Coliche, interessamento del sistema nervoso e diarrea sono meno comuni. Alla necropsia è presente un'enterite emorragica con necrosi del piccolo intestino; i linfonodi mesenterici sono edematosi ed emorragici e sono spesso presenti petecchie ed ecchimosi sulle sierose (in particolare sul pericardio) e sul timo.

*Cl. perfringens* A può provocare una diarrea mucosa, abomasite, ulcere abomasali e timpanismo nei giovani vitelli.

*Cl. perfringens* tipo D e *Cl. perfringens* tipo E, sono responsabili di enterotossiemie nei vitelli, seppure sia molto più rara la loro presenza nel determinismo di patologia.

Per quanto riguarda *Cl. perfringens* tipo B, è stato ampiamente dimostrato il suo ruolo nella dissenteria degli agnelli, mentre ancora molto dubbia è la sua capacità di causare enterite emorragica nel vitello.

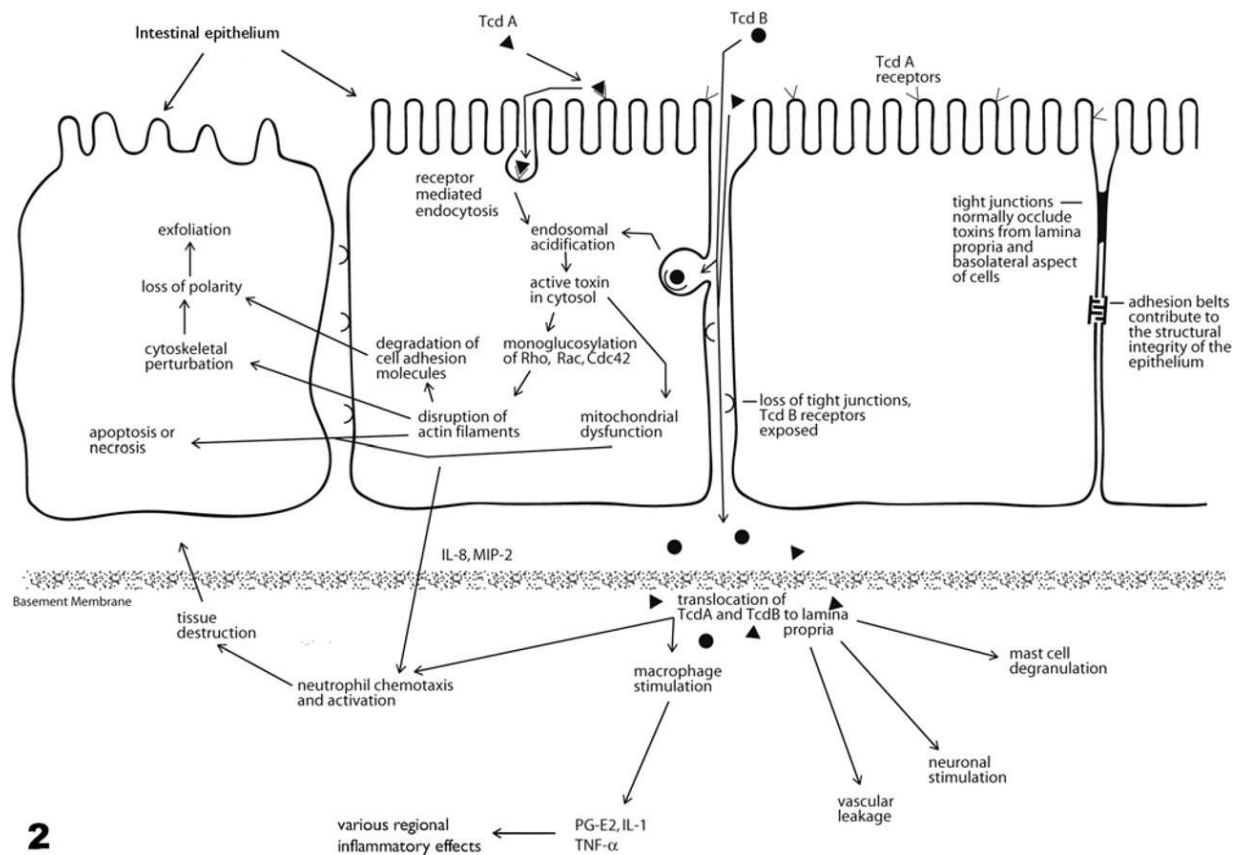
L'isolamento di *Cl. perfringens* viene effettuato su Agar sangue e terreno selettivo incubato a 37 °C per 24-48 ore in condizioni di anaerobiosi e identificato mediante prove biochimiche. Inoltre i ceppi isolati possono essere classificati mediante PCR in funzione dei geni codificanti per le tossine maggiori (Alborali L. 2006). Bisogna ricordare che l'isolamento di questo batterio va correlato a elementi anamnestici quali la freschezza del campione, al riscontro anatomo-patologico, e alla determinazione della concentrazione del patogeno. Infatti *Cl. Perfringens* può essere presente nel tratto intestinale anche in condizioni normali e può moltiplicarsi in quantità elevate dopo la morte. La maggior parte degli autori è concorde nel sostenere che può essere considerato diagnostico il rilievo di una quantità superiore a  $10^6$  ufc/g di *Cl. Perfringens* nel contenuto intestinale in buono stato di conservazione (Greco G., 2004; Bueschel D. M., 2003).

*Cl. difficile* sembra essere un problema emergente nella diarrea del vitello. Anche in questo caso la diarrea è mediata da produzione di tossine (Tcd A e Tcd B) (fig. 6) che portano a morte delle cellule epiteliali, danneggiamento delle *tight junctions*, infiammazione della mucosa e della sottomucosa. Anche se il ruolo patogenetico di *Cl. difficile* non è del tutto chiaro sembra che possa produrre un aumento dei liquidi nel lume intestinale determinando così diarrea (Foster D. M., 2009).

Se la clostridi osi compare nei vitelli nel primo mese di vita è consigliabile vaccinare le madri nella parte terminale della gravidanza in modo da favorire una migliore immunità passiva colostrale. Il vitello potrà poi essere sottoposto a vaccinazione per la prima volta ad una età non inferiore ai tre mesi (Rosignoli C., 2008). Non sono attualmente disponibili in Italia vaccini per il botulismo.

Fig. 6

Ruolo diretto e indiretto delle tossine Tcd A e Tcd B di *Cl. difficile* nella patogenesi delle coliti infiammatorie e della diarrea.



*Vet. Pathol.* 43: 225-240, 2006

## BVD

Il virus agente della Diarrea Virale Bovina (BVDV) è un Pestivirus appartenente alla famiglia Flaviviridae, che, fino a pochi anni fa, era suddiviso in due genotipi, il BVDV tipo 1, comprendente gli stitipi classici ed il BVDV tipo 2, nel quale sono stati inclusi alcuni stitipi trombocitopenici che sono stati associati a gravi sindromi emorragiche causate da infezioni postnatali con tassi di mortalità che arrivano fino al 25% (Valla G., 2008). Di recente lo studio della diversità genica ha consentito di suddividere da prima i ceppi BVDV in quattro sottogenotipi (BVDV 1a, BVDV 1b, BVDV 2a, BVDV 2b) e successivamente di estenderli in 12 differenti gruppi genici (da BVDV 1a a BVDV 1i) (Flores E., 2002; Vilcek S. 2004). Il virus è inoltre caratterizzato dall'esistenza di un biotipo citopatico (cp) e uno non citopatico (ncp). Entrambi i biotipi possono essere isolati da bovini colpiti da Malattia delle Mucose ma solo il biotipo non citopatico può essere risolato da animali cronicamente infetti.

L'infezione avviene attraverso la via digerente e/o respiratoria e successivamente il virus si moltiplica a livello delle mucose che sono il sito primario di replicazione. Oltre alle mucose,

il virus infetta le tonsille e dopo 2-4 giorni segue una fase viremica in cui il virus è veicolato attraverso i linfociti. Il biotipo citopatico replica con difficoltà in seguito ad infezione primaria. Al contrario, il biotipo non citopatico, induce costantemente viremia. Le conseguenze dell'infezione variano in relazione alla virulenza del ceppo infettante, allo stato immunitario dell'animale, ma soprattutto in funzione del periodo di gestazione al momento dell'infezione (fig.). Dopo inoculazione, in vitelli sensibili, con ceppi BVDV1 e BVDV 2 a bassa virulenza, gli animali non sviluppano chiari sintomi di malattia mentre i segni clinici rilevabili dopo infezione con ceppi ad alta virulenza sono gravi, ma aspecifici e consistono in anoressia, depressione, febbre elevata e spesso anche diarrea che può essere caratterizzata da grave sanguinamento. L'infezione post natale di animali non gravidi può esitare in uno stato di immunodepressione, in diarrea e in sindromi di tipo trombocitopenico/emorragico. Negli animali gravidi, quando l'infezione raggiunge la placenta ed il feto, può determinare riassorbimento embrionale, aborto, anomalie congenite e sviluppo dell'infezione cronica con nascita di soggetti immunotolleranti persistentemente infetti (PI). Il vitello immunotollerante risulta sieronegativo (almeno verso le proteine non strutturali) e infetto con viremia persistente. Tali animali, essendo escretori persistenti del virus, devono essere considerati come fonte continua d'infezione nel gruppo. L'infezione persistente può esitare nella nascita di soggetti "cl clinicamente sani" ma anche di soggetti "disvitali" che sono maggiormente predisposti a contrarre altre infezioni secondarie. Nella diagnosi differenziale delle patologie gastroenteriche (e anche di quelle respiratorie e nervose) del vitello è importante, quindi, inserire il virus della BVDV quale agente primario e/o predisponente di infezione. Le indagini di laboratorio sono fondamentali per ottenere una diagnosi di certezza e possono essere applicate sia al fine di investigare i singoli casi clinici, sia al fine di ottenere informazioni epidemiologiche utili a definire un piano di controllo della malattia e dell'infezione. Per quanto riguarda la diagnosi indiretta, rivolta alla ricerca di anticorpi specifici per il virus nel siero di sangue o nel latte si utilizzano i test di sieroneutralizzazione ed ELISA. Con la diagnosi diretta, che ricerca la presenza del virus in sé o del RNA virale, si hanno l'individuazione dei soggetti PI e l'acquisizione d'informazioni relative alla variabilità genomica e biotipica del BVD. In caso di sospetto di BVD occorre procedere alla raccolta di un tampone nasale e di un campione di feci. Per un breve periodo (7-14 gg.) il virus è reperibile anche a livello ematico (viremia transitoria e ricerca dell'antigene virale nel sangue) e in caso di animale deceduto con sospetto BVD occorre inviare al laboratorio campioni di milza, polmone, rene e tratto intestinale interessato da eventuali lesioni. Le strategie di controllo sono state prevalentemente articolate in tre punti:

- Profilassi diretta, che ha come punto cardine la ricerca, l'identificazione e la rimozione dei soggetti immunotolleranti PI, associata all'applicazione di strette misure di biosicurezza (limitazioni negli spostamenti animali, eliminazione di feti abortiti e relativi annessi, monitoraggio del latte di massa)
- Profilassi indiretta, che si basa sul ricorso alla vaccinazione sistematica verso BVDV
- Applicazione associata dei due approcci sopra indicati

Un aspetto importante che riguarda la vaccinazione, in piani di controllo con valenza di tipo eradicativo è la necessità di utilizzare vaccini con dimostrata attitudine nel proteggere il feto dall'infezione transplacentare. In questo caso si utilizzano vaccini inattivati (sul territorio italiano esistono due presidi immunizzanti inattivati registrati con Autorizzazione Ministeriale)

## ALTRI PATOGENI

Giardia è stata isolata dal duodeno e dalla parte prossimale del digiuno di vitelli con diarrea, ma non è sicuro il suo ruolo diretto nella patogenesi della malattia (Björkman C., 2003). Poiché questo parassita è un agente zoonosico, gli animali che presentano una positività devono essere, comunque, maneggiati con attenzione. La diagnosi si effettua mediante identificazione al microscopio delle cisti nelle feci dopo colorazione con derivati iodati.

*Campylobacter jejuni* e *Campylobacter fecalis* sembrano causare occasionalmente enterite nel vitello, così come anche il Breda virus (BRV) (Duckmanton L., 1998).

L'uso del microscopio elettronico per studiare l'eziologia delle enteriti ha rilevato nelle feci la presenza di particelle virali, che per struttura sono assimilabili ai Calicivirus (*Calici-like*).

## **Alterazioni conseguenti alla diarrea e D-lattato**

Indipendentemente dalla causa e dal meccanismo di fondo, i vitelli con diarrea presentano una perdita di acqua ed elettroliti con le feci che può arrivare fino al 13%-21% del proprio peso corporeo al giorno (Nakagawa M., 2007). Queste perdite portano a disidratazione sistemica con contrazione sia del volume del liquido extracellulare che del liquido. I reni possono provare a compensare riducendo la produzione di urine, ma se le perdite eccedono l'assunzione di liquidi, la disidratazione progredisce. La diminuzione del liquido extracellulare ha come conseguenza una diminuzione del volume ematico e del ritorno venoso al cuore, con minore perfusione dei tessuti, azotemia elevata e shock di tipo ipovolemico nei casi gravi.

Studi recenti hanno dimostrato che con l'aumento delle secrezioni intestinali si ha perdita di bicarbonato proveniente dal liquido extracellulare con conseguente riduzione dei sistemi tampone dell'organismo, ma che queste perdite giornaliere sono troppo lievi per giustificare alterazioni del pH ematico gravi. Come già accennato, la reale causa dell'acidosi sembra essere legata ad un aumento della concentrazione degli *strong anions* dovuta alla produzione batterica di **D-lattato** a seguito della fermentazione del latte in digerito (Constable P. D., 2005). In condizioni normali, la flora batterica produce acidi grassi (sptt. acetico, propionico, butirrico) in quantità limitata, poiché i substrati (soprattutto carboidrati) sono rapidamente digeriti e assorbiti nei tratti prossimali del canale intestinale. La presenza, invece, di carboidrati non digeriti può favorire l'iperproduzione di acidi organici ed in particolare di D-lattato con riduzione del pH intraluminal. L'ambiente acido favorisce la crescita di lattobacilli (che sono i maggiori produttori di D-lattato) aggravando ulteriormente l'acidosi. L'infiammazione e i danni alla mucosa intestinale favoriscono a loro volta il rapido assorbimento di D-lattato e le sue concentrazioni ematiche (Ewaschuk J. B., 2005).

E' stato ipotizzato un effetto neurotossico del D-lattato (Sconza S., 2006) in quanto questo enzimico è in grado di passare la barriera ematoencefalica per diffusione semplice ed è stato rilevato nel liquido cefalorachidiano (Zello G.A., 2005). Il D-lattato sembra interferire direttamente col metabolismo del piruvato e, in effetti, l'encefalo utilizza il glucosio come fonte primaria di energia. Elevate concentrazioni di D-lattato interferiscono con il pH intraneuronale, abbassandolo e questo interferisce con la decarbossilazione del piruvato, riducendo la produzione di acetyl CoA e edenosina trifosfato, fino ad alterare i neurotrasmettitori. I sintomi cerebellari sembrano essere dominanti poiché il cervelletto contiene fisiologicamente minime concentrazioni di piruvato deidrogenasi (Arnaudo F., 2009) e tra i segni clinici, il riflesso palpebrale è quello più alterato (Lorenz I. I., 2004).

Altre variazioni di concentrazione tra i costituenti del plasma vanno a influenzare lo stato di acidemia come l'**iponatriemia** accompagnata spesso da **ipocloremia**. E' importante anche valutare il livello di **potassio** poiché ha un ruolo critico nel determinare il potenziale di membrana delle cellule e di conseguenza, l'eccitabilità neuromuscolare. Solo il 2% del potassio corporeo risiede nel liquido extracellulare, mentre la maggior parte è nel liquido intracellulare (nei muscoli scheletrici ) e quindi la kaliemia non riflette necessariamente lo stato reale delle riserve totali di questo catione. La regolazione del potassio avviene soprattutto per via renale dove viene filtrato quasi totalmente a livello glomerulare e riassorbito nei tubuli renali prossimali. L'eliminazione avviene poi per escrezione diretta con consumo di ATP nei tubuli distali e dotti collettori (scambio con Na). Questo processo dipende quindi, oltre che da una disponibilità energetica di ATP, dal flusso urinario e. Nel caso di vitelli disidratati quindi si può avere ritenzione di questo catione. Sempre in corso di diarrea neonatale, l'aumento degli idrogenioni nel torrente ematico viene bilanciato dal movimento di questi verso l'interno delle cellule mentre il potassio si sposta dal comparto intracellulare per mantenere la neutralità con conseguente iper-kaliemia. I segni clinici legati a questo evento saranno bradicardia (freq. < 90 bpm), aritmie cardiache e debolezza muscolare.

## **Fluidoterapia e soluzioni reidratanti orali**

Per stabilire la quantità di fluidi da apportare al vitello è necessario stimare la severità della disidratazione che può essere effettuata basandosi su una serie di segni clinici. Tra i numerosi metodi proposti, quelli realisticamente più indicativi si basano sulla valutazione dell'elasticità della plica cutanea della palpebra e del collo (tab. 2) e la concentrazione delle proteine plasmatiche. Per quanto riguarda l'enoftalmo, esso viene valutato osservando la regressione del bulbo oculare (espressa in mm) all'interno dell'orbita. Occorre ricordare che nel caso di diarrea cronica, gli animali magri o con scarse riserve di grasso presentano enoftalmo provocato dalla riduzione del cuscinetto adiposo retro orbitale e quindi, questo parametro, perde di affidabilità per stimare la disidratazione (Constable P. D., 1998). Per la valutazione delle proteine plasmatiche servono un prelievo ematico e un refrattometro (per non incorrere in un laboratorio specializzato), diminuendo così l'applicabilità nella pratica di campo. Altri parametri utili possono essere la capacità di mantenere la posizione quadrupedale, la temperatura rettale e delle estremità degli arti, in quanto direttamente collegati alla gittata cardiaca e quindi al volume di liquido extracellulare dell'animale. Infine possono essere utili la valutazione delle mucose (lingua soprattutto), il tempo di riempimento capillare (che in un animale sano non supera mai i 2 secondi), l'umidità del musello e della cornea. Tutti questi segni clinici devono indirizzare verso una stima della percentuale di disidratazione, al fine di decidere la quantità di fluidi da somministrare:

$$\text{Volume di infusione} = [\text{Peso del vitello (Kg)} \times \% \text{ disidratazione}] : 100$$

**Velocità di infusione** = compresa tra 10 e 35 ml/Kg p.v./h, con riduzione del deficit ionico in 2-6 ore (80 ml/Kg/h velocità consentita nelle rapide rianimazioni)

(Constable P. D., 2002)

Tab. 2

<u>Regione del collo/palpebra superiore</u>	
-plica persistente	< 4 secondi 5% disidratazione
-plica persistente	>5 secondi 7% disidratazione
-plica persistente	>7 secondi >8% disidratazione
<u>% disidratazione= 1.7 x infossamento oculare (mm)</u>	
-	>2 mm = 3-4%
-	> 3 mm = 5-6%
-	> 4 mm = 6-8%
(Walker P. G., 1998)	

Come già accennato, oltre a una valutazione clinica della stima della percentuale di disidratazione c'è una valutazione oggettiva, che si basa su esami ematologici, biochimici ed emogasanalitici.

Studi recenti hanno dimostrato che in vitelli disidratati l'esame emocromocitometrico, l'esame biochimico e l'emogasanalisi presentano quadri specifici. Il significativo aumento dell' **ematocrito**, delle **proteine totali** e dell'**urea** è direttamente correlato all'aumento della percentuale di disidratazione. Inoltre c'è anche una correlazione tra **base excess** e **anion gap** e l'aumento della disidratazione (Guzelbektes H., 2007). **Nella disidratazione grave avrò sempre Base Excess negativo e Anion Gap alto.** Molto importante è sottolineare che non c'è invece una esatta correlazione con la gravità della disidratazione e lo stato di acidosi. Animali molto disidratati possono avere un'acidosi parzialmente compensata. E' utile calcolare l' Anion Gap e il Base Excess (fig.) per vedere se c'è effettivamente bisogno di correggere l'acidosi metabolica attraverso la somministrazione di bicarbonato:

$$\text{mmol di bicarbonato} = (\text{Kg}) \times \text{Base Excess (mmol/l)} \times 0.6 \text{ (l/Kg) valore di distribuzione del bicarbonato nel liquido extracellulare dei vitelli}$$

In generale devono ricevere fluidi per via endovenosa tutti i vitelli disidratati in misura  $\geq 8\%$  (infossamento del globo oculare  $> 4$  mm) e tutti gli animali disidratati in misura  $\geq 6\%$  (infossamento del globo oculare  $> 3$  mm) con riduzione del riflesso della suzione. Un approccio rivoluzionario alla somministrazione di fluidi viene dato dalla somministrazione endovenosa rapida di piccoli volumi di soluzione salina ipertonica (**5 ml/Kg in 5 minuti di soluzione di NaCl al 7.2% = 2400 mOsm/l**) o di una soluzione di bicarbonato di sodio ipertonica (**6 ml/Kg in 6 minuti di una soluzione di NaHCO<sub>3</sub> all'8.4% = 2000 mOsm/l**). Questi protocolli rappresentano il metodo più rapido per rianimare i vitelli in stato comatoso e ipotesi poiché aumento rapidamente il precarico (Constable P.D., 2010). Successivamente alla rianimazione si deve cercare di reidratare il vitello e si possono utilizzare soluzioni

endovenose isotoniche associate a colloidi (in quanto permangono per più tempo nel letto vascolare) o soluzioni orali isotoniche per aumentare l'acqua libera aggiuntiva con bolo finale di 20 ml di Dextrano al 50% o Glucosio al 33% (energizzante). Le soluzioni ipertoniche sono sconsigliate se i livelli di sodio nel sangue sono elevati (depressione cerebrale) e nei casi di shock cardiogeno e ostruttivo in quanto vi è un mancato ritorno venoso al cuore (per es. in una grave emorragia).

La somministrazione di fluidi orali deve essere effettuata solo se l'animale riesce a mantenere la stazione quadrupedale e se il riflesso della suzione è buono. Nelle soluzioni elettrolitiche orali gli aspetti più importanti risultano essere: osmolarità, concentrazione di Sodio, fonte dell'agente alcalinizzante ed fonte di energia. L'osmolarità deve variare da isotonica (300 mOsm/Kg) a ipertonica (700 mOsm/Kg). L'osmolarità efficace a livello della punta dei villi è all'incirca di 600 mOsm/Kg a causa di un meccanismo di scambio controcorrente. Negli animali con forte sospetto di grave danno ai villi sono però sconsigliate soluzioni ipertoniche orali. Le soluzioni isotoniche hanno scarse fonti energetiche e quindi devono essere addizionate al latte o integrate con Glucosio, acetato o glicina.

## **Antibioticoterapia**

In corso di diarrea neonatale l'antibioticoterapia è giustificata nella prevenzione d'infezioni batteriche secondarie. Attualmente è significativo il fenomeno dell'antibiotico-resistenza. Studi hanno dimostrato che i vitelli risultano colonizzati da ceppi anticibitico-resistenti di *E. coli* subito dopo la nascita, i quali rappresentano un *reservoir* potenziale di geni di antibiotico resistenza che potrebbero essere trasferiti ad altri batteri patogeni, determinando l'insuccesso delle cure terapeutiche, con importanti ricadute sanitarie ed economiche (Pollera C., 2008). L'utilizzo degli antibiotici andrebbe circoscritto all'uso terapeutico vero e proprio in presenza di sintomatologia clinica (non all'uso profilattico addizionato al latte) e non andrebbe protratto per più di tre giorni in assenza di antibiogramma.

Nei casi di batteriemia, di onfalite e di coinvolgimento articolare e polmonare è necessario un trattamento antibiotico sistemico per almeno cinque giorni. Per quanto riguarda *Cryptosporidium*, si dovrebbero trattare tutti i vitelli infetti e tutti i vitelli in contatto con questi ultimi con alofuginone (unico prodotto registrato per questo parassita) ad una posologia pari a 60-125 µg/Kg per os per sette giorni consecutivi (Arnaudo F., 2009). Vitamine e probiotici possono essere utilizzati per stimolare l'appetito.

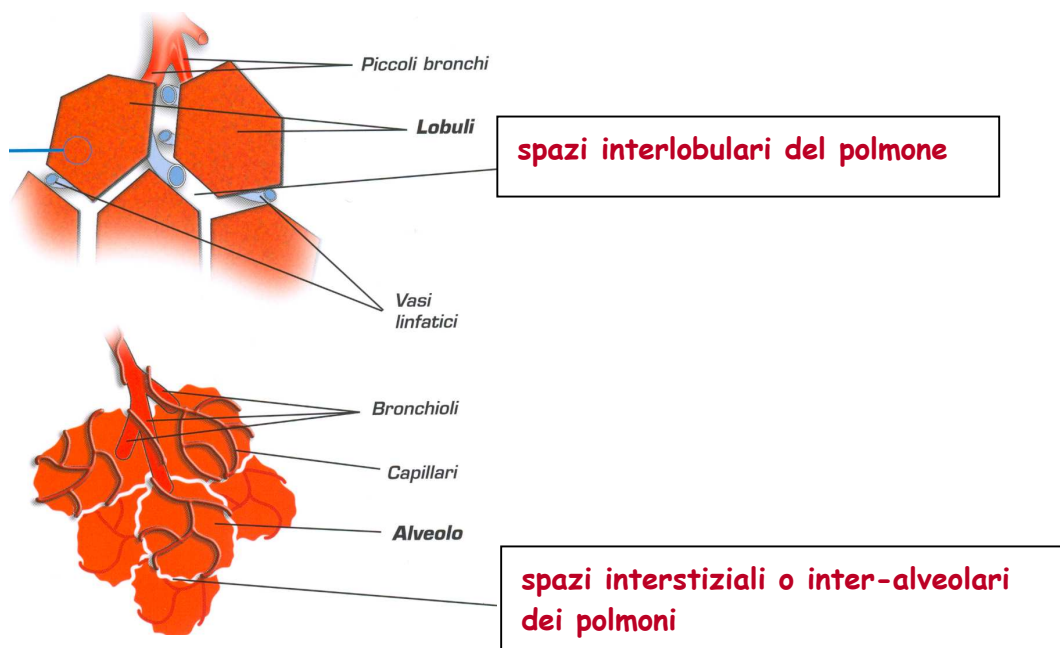
## **II. 4 PATOLOGIE DELL'APPARATO RESPIRATORIO**

Le affezioni respiratorie sono, dopo la diarrea, la seconda causa di morte dei giovani vitelli con un'incidenza del 21.3 % (Poulsen K. P., 2009). Nei vitelli di età inferiore alle 3 settimane di vita le cause principali che portano a malattia respiratoria sono:

- Capacità di alcuni virus di attraversare la barriera placentare (BVDV)
- Rapidi cambiamenti fisiologici che intercorrono tra il periodo fetale e la nascita
- Anatomia del polmone svantaggiosa nel bovino (fig. 7)
- Alta contaminazione batterica ambientale e colostrale
- Bruschi sbalzi termici tra giorno e notte e forti correnti d'aria
- Formazione di gruppi non omogenei ed eventi manageriali stressanti
- Lenta e inadeguata identificazione degli agenti patogeni

Le patologie respiratorie dei primissimi giorni di vita sono dovute, nella maggior parte dei casi, a forme setticemiche a evoluzione quasi sempre fatale o a scompensi gravi del sistema respiratorio e cardiocircolatorio dovuti principalmente a distocie. Un altro punto critico per lo sviluppo di patologie respiratorie è la formazione di gruppi. I vitelli sono molto vulnerabili ai cambi di alimentazione e di alloggi. Più del tipo, è importante il modo in cui vengono gestiti gli alloggiamenti. Sovraffollamento, scarsa igiene, assenza o eccessiva aerazione, scarsa ingestione di energia e sostanza secca, tendono ad aumentare l'incidenza delle patologie respiratorie. Infine per il successo terapeutico delle malattie respiratorie è essenziale **identificare tempestivamente l'agente patogeno**, utilizzando adeguate metodiche diagnostiche. Questo permette anche la riduzione dei tassi di patologie croniche con ritardi di crescita e della fertilità. Le manze che da giovani hanno avuto patologie respiratorie mal curate o trascurate entreranno in produzione più tardi della altre e invecchieranno precocemente influenzando negativamente sulla redditività dell'azienda. L'utilizzo di metodiche diagnostiche precise e rapide permette anche la conoscenza più approfondita della molteplicità di agenti patogeni fino ad oggi poco conosciuti e spesso associati tra di loro. Infatti si parla di **Complesso della Malattia Respiratoria Bovina** poiché più agenti patogeni contribuiscono nel determinismo della malattia.

Fig. 7 Rappresentazione schematica della struttura del polmone bovino. La completa separazione lobulare e il ridotto numero di pori interalveolari causano una riduzione del flusso collaterale e della clearance polmonare



## Principali agenti patogeni

### MYCOPLASMA BOVIS

*M. bovis* (classe *Mollicutes*, famiglia *Micoplasmataceae*) è il patogeno batterico identificato con più frequenza a livello polmonare. In diversi studi volti a definire la patogenicità di *M. bovis* a livello polmonare emerge come tale patogeno a livello respiratorio dia difficilmente luogo a rapporti di tipo opportunistico con l'ospite bovino (Radaelli E., 2006). Inoltre alcuni autori hanno evidenziato come in caso d'isolamento di *M. bovis* in corso di Malattia Respiratoria vi sia un rischio maggiore di morte o di ripetizione dei trattamenti terapeutici (White B. J., 2010). Il vitello neonato si infetta dai quarti mastitici delle madri, dal colostro infetto o attraverso fomiti di altri vitelli malati. Il batterio ha tropismo mucosale (apparato respiratorio, gastroenterico, urogenitale) e ghiandolare (ghiandola mammaria). Tra i sintomi clinici nel vitello possiamo vedere frequentemente otiti medie oltre a artrosinoviti (Maunsell F.P., 2009). Le infezioni dell'orecchio interno possono arrivare alla bolla timpanica, ai nervi facciali e alle meningi. Le lesioni macroscopiche osservate con più frequenza in sede di macellazione sono caratterizzate da aree rossastre di consolidamento parenchimale in gran parte localizzate ai lobi apicali. I corrispondenti reperti istopatologici sono riferibili a fenomeni di broncopolmonite catarraldesquamativa cronica associata a peribronchiolite follicolare con presenza intralveolare di macrofagi e cellule giganti multinucleate. La diagnosi può essere effettuata attraverso esame batteriologico (coltura), esame immunoistochimico, esame istologico, a partire da porzioni di parenchima polmonare (in sede necroscopica), da sangue o da secrezioni respiratorie (in vivo) prelevate con lavaggio bronco alveolare o trans tracheale. Non ci sono informazioni utili e sufficienti sulla profilassi vaccinale per *Mycoplasma* nei giovani vitelli. La riduzione della prevalenza del patogeno deve essere affidata a strategie manageriali (pastorizzazione del colostro) e terapeutiche.

### MANNHEIMIA HAEMOLYTICA

*Mannheimia haemolytica* è un microrganismo commensale delle alte vie respiratorie del bovino e risiede nelle cripte tonsillari di animali clinicamente sani. I principali sierotipi coinvolti nei focolai di Malattia Respiratoria del Bovino (MRB) sono A1, A2, A3 (Cavirani S., 2007; Klima C. L., 2010). Eventi stressanti possono compromettere l'omeostasi della mucosa respiratoria permettendo al batterio di replicarsi, colonizzare il nasofaringe e raggiungere il polmone. Durante la fase di crescita logaritmica, il batterio produce una potente esotossina (LKT) e una citolisina che ha come bersaglio i leucociti (legame coi recettori  $\beta_2$  integrate LFA-1). Inoltre *Mannheimia haemolytica* possiede altri fattori di patogenicità altrettanto importanti quali: Outer Membrane proteins (OMP) che giocano un ruolo chiave nelle formulazioni vaccinali (Ayalew S., 2010) e Iron Regulated Proteins (IRP) che sottraggono ferro organico, sia libero che complessato con la transferrina, a favore del batterio. Questi fattori di patogenicità causano gravi lesioni polmonari, caratterizzate da degenerazione degli epitelii alveolari e degli endoteli capillari oltre che a infiltrazione e degenerazione delle cellule infiammatorie, che esitano in foci necrotici localizzati (2 cm circa).

L'esame batteriologico-culturale è considerato il *gold standard* nella prassi diagnostica, eseguito su porzioni di polmone (post-mortem) o da materiale proveniente da BAL o ATT (lavaggio bronco alveolare, aspirazione trans tracheale). Può essere effettuata anche una diagnosi indiretta ricercando anticorpi verso LKT nel sangue durante la fase acuta e convalescente della malattia (Cavirani S., 2007). Esistono vaccini spenti contenenti sub unità batteriche con efficacia provata nello sviluppo di una immunità protettiva nei confronti del

batterio (Confer A. W., 2009). Mentre i vaccini tradizionali contengono solo antigeni capsulari e il tosoide della leucotossina, quelli più moderni utilizzano la tecnologia IRP e permettono una produzione di anticorpi anti Iron Regulated Proteins. Se *M. haemolytica* non può assorbire il ferro, non può replicare e quindi non può neppure produrre la leucotossina. Esistono inoltre diverse formulazioni vaccinali con somministrazione sia parenterale che intranasale. Riguardo il vaccino intranasale bisogna sottolineare che non deve essere effettuato al di sotto delle due settimane di vita del vitello per interferenza dell'immunità passiva (Ayalew S., 2009). L'intervallo di tempo da considerare migliore è quello che va dai 14 giorni di età al mese d'età, con richiamo dopo 21-28 giorni per ottenere l'effetto *booster*. Nonostante l'efficacia vaccinale, si devono sempre essere applicate le misure di profilassi diretta volte ad eliminare le fonti di infezione e di cause predisponenti.

### PASTEURELLA MULTOCIDA

*Pasteurella Multocida*, come *Mannheimia haemolytica*, fa parte della normale flora batterica delle alte vie respiratorie (ma non del polmone) ed è riscontrabile nei quadri di malattia respiratoria del bovino quando le normali difese dell'animale vengono compromesse. Mentre *Mannheimia haemolytica* sembra essere associata ai casi di malattia acuta respiratoria, *P. Multocida* è associata ai casi cronici di malattia (Irsik M., 2007). Nel vitello *P. multocida* sierotipo A:3 è responsabile di una grave broncopolmonite suppurativa che causa significative perdite di produzione e mortalità (Dagleish M. P., 2010).

### IBR (BoHV-1)

L'IBR riconosce come agente causale un herpes virus bovino di tipo 1, che si diffonde da un animale all'altro attraverso le secrezioni nasali o genitali. E' possibile anche il contagio per aerosol. In seguito all'infezione per via respiratoria il virus viaggia per trasporto assonale retrogrado fino al ganglio trigeminale, dove si stabilisce un'infezione latente che dura per tutta la vita. Questi animali infetti in modo latente rivestono un'importanza critica nel controllo della malattia poichè diventano escretori asintomatici (il virus infatti si può riattivare durante eventi stressanti). I vitelli neonati possono contrarre l'infezione e andare in contro ad una forma sistemica spesso fatale. La malattia si manifesta dopo 3-4 giorni dalla nascita e i sintomi respiratori sono di scarsissima entità. Nelle prime fasi dell'infezione si ha eccitazione senza ipertermia mentre, successivamente, compaiono ptialismo, diarrea, depressione del sensorio e in alcuni casi sembra che i vitelli non riescano a vedere correttamente. La guarigione è rara e la morte sopraggiunge dopo 3-4 giorni dalla comparsa dei segni clinici. All'esame necroscopico è possibile rilevare aree necrotiche nel fegato, nella milza e nei reni. Inoltre si possono rilevare segni di glossite, esofagite e ruminite necrotica.

Studi hanno dimostrato che i vitelli che si infettano quando sono sotto protezione anticorpale diventano portatori latenti sieronegativi e quindi non identificabili dal punto di vista diagnostico se non in seguito all'esame *post mortem* dal ganglio trigeminale. Per questo motivo, un vitello infetto da IBR nei primi giorni di vita che riesce a sopravvivere diventa un potenziale pericolo per la mandria.

Nel vitello la diagnosi diretta rappresenta il metodo migliore di identificazione di IBR. L'isolamento può essere effettuato su colture cellulari oppure si possono ricercare antigeni virali attraverso immunofluorescenza diretta o PCR, a partire da materiale prelevato in vivo (tampone nasale profondo) o post-mortem (trachea, polmone). La diagnosi indiretta è

possibile solo in animali di età superiore ai 3 mesi, non più provvisti di anticorpi materni. Il punto cruciale da affrontare, al fine di ridurre la prevalenza dell'infezione da IBR, è quello di impedire, nel limite del possibile, l'infezione stessa, soprattutto negli animali da rimonta. Affidare la protezione nei confronti dell'infezione da IBR all'immunità passiva di origine colostrale potrebbe essere un errore. Nel corso di prove sperimentali, è dimostrato che gli anticorpi colostrali non sono in grado di prevenire l'infezione e soprattutto non sono in grado di prevenire l'instaurarsi della latenza virale. E' possibile vaccinare gli animali giovani, per IBR, con vaccini vivi per via intranasale, in modo da sensibilizzare l'animale con un ceppo vaccinale non patogeno e impedire, nel limite del possibile l'infezione e l'instaurarsi della latenza da parte di ceppi patogeni. Gli animali possono essere successivamente vaccinati anche con vaccini vivi o inattivati IBR, sfruttando in tale modo l'effetto booster sia sull'immunità umorale che cellulo-mediata anticorpo dipendente (ADCC). Nelle bovine in attività riproduttiva possono essere utilizzati sia vaccini contenenti ceppi IBR vivi ts, vivi apatogeni o vaccini marker deleti, che offrono un elevato profilo di efficacia ed innocuità, che vaccini inattivati, validi per il loro profilo di innocuità e per il tipo di immunità indotto (umorale e cellulo mediata ADCC), efficace nella prevenzione della riattivazione dell'infezione virale. L'utilizzo eventuale dei vaccini deleti, deve essere sempre accompagnato alla ricerca ed allontanamento dei capi gE positivi; infatti se questo non viene fatto si va ad annullare totalmente il vantaggio fornito dall'utilizzo dei vaccini deleti. Va tenuto in considerazione il fatto che, l'utilizzo di vaccini deleti in soggetti positivi all'infezione da IBR, non determina la negativizzazione dei soggetti, i quali rimangono positivi nei confronti della proteina gE, almeno per un certo periodo di tempo (almeno 36 mesi).

## BVDV

E' ormai accertato che il virus della BVD sia un cofattore delle pneumoenteriti e delle polmoniti del periodo neonatale, oltre che causa di aborti e malformazioni congenite. L'esposizione di animali sani a un virus che induce immunosoppressione può predisporre a infezioni batteriche secondarie e alla diminuzione della produzione di anticorpi in corso di vaccinazioni (Burciaga-Robles L. O., 2010). Come già accennato, la produzione di vitelli infetti in modo persistente (PI) rappresenta il fattore chiave dell'epidemiologia della BVD, in quanto questi soggetti costituiscono la maggiore fonte di infezione nei confronti degli altri animali. Un soggetto PI viene prodotto quando una bovina gravida si infetta ad uno stadio in cui il sistema immunitario del feto non è in grado di elaborare una risposta immunitaria contro un antigene e lo riconosce invece come proprio. Questo periodo va di solito dal 60° al 125° giorno di gravidanza. La viremia dura per tutta la vita e i vitelli PI disseminano il virus in quantità superiori a quelle dei capi infetti in modo acuto (Inman C., 2008). L'identificazione degli animali PI non è semplice e se si vuole ricercare l'antigene virale nel sangue bisogna tenere in considerazione alcuni aspetti immunologici:

- E' probabile che il colostro di una bovina infetta contenga una quantità elevata di anticorpi BVD. E' per tanto preferibile eseguire il test prima della somministrazione di colostro al vitello o da quattro mesi di età in poi. In alternativa un esame eseguito su una biopsia cutanea consente l'individuazione degli antigeni anche su soggetti con anticorpi circolanti.
- Alcuni animali PI possono sviluppare anticorpi contro BVD e mascherare transitoriamente la rilevazione antigenica. In questo caso bisognerebbe effettuare almeno due test a distanza di tre settimane l'uno dall'altro o effettuare una biopsia cutanea.

- Alternativamente al sangue l'antigene virale può essere ricercato all'interno dei tubuli seminiferi o direttamente dal seme di toro.

Per il controllo della BVD è cruciale la protezione dell'apparato riproduttore (turbe riproduttive), e la protezione nei confronti dell'infezione fetale, al fine di limitare il più possibile la nascita di vitelli persistentemente infetti (immunotolleranti). A questo fine l'utilizzo di vaccini inattivati consente di ottenere elevati livelli di immunità umorale e di immunità cellulo-mediata anticorpo dipendente, con un'ottima protezione nei confronti della fase viremica dell'infezione e, di conseguenza, nei confronti dell'infezione transplacentare che può esitare nella nascita di vitelli immunotolleranti persistentemente infetti (PI).

### BRSV

Il virus respiratorio sinciziale bovino appartiene alla famiglia delle *Paramyxoviridae* (genere *Pneumovirus*) e ha tropismo esclusivamente respiratorio (prime vie aeree e polmone). La maggiore prevalenza del patogeno si registra in autunno e in inverno e il contagio avviene per contatto diretto. Il virus colpisce prevalentemente gli animali di età compresa tra 1-6 mesi e la sintomatologia clinica è comunque in generale lieve e aspecifica. L'età degli animali ha notevole importanza dal punto di vista infettivo. Vitelli neonati o sotto le 2 settimane di età non sembrano presentare malattia. Studi hanno dimostrato che questo fatto sembra essere legato non tanto alla protezione passiva materna, ma all'incompetenza immunitaria dei vitelli neonati, in particolare alla bassa capacità di produrre la citochina TNF- $\alpha$  (Antonis A. F. G., 2010). TNF- $\alpha$  è un potente mediatore nell'infiammazione e gioca un ruolo fondamentale nella risposta infiammatoria bronchiolitica in corso di infezione da VRSB. D'altra parte, quando TNF- $\alpha$  viene prodotto in eccesso, provoca disordini respiratori cronici. Si è evidenziato come vitelli con segni gravi di infezione da VRSB presentino elevate quantità nel sangue di TNF- $\alpha$ . La capacità, da parte dei vitelli, di produrre TNF- $\alpha$  è direttamente proporzionale con l'incrementare dell'età. Per la valenza BRSV è opportuno immunizzare i giovani animali o gli animali che non sono mai venuti a contatto con il patogeno, sia con vaccini vivi attenuati che inattivati, i quali possono essere utilizzati con sicurezza, se necessario, anche nelle bovine in attività riproduttiva.

Dal punto di vista dell'opportunità di sottoporre a vaccinazione le bovine da latte nei confronti del VRSB, occorre fare alcune considerazioni. L'infezione da VRSB è altamente diffusa nell'allevamento della bovina da latte, anche se, in molti casi, la presenza dell'infezione non si accompagna a chiari segni clinici di forme respiratorie riconducibili all'azione di VRSB, sia nei giovani animali che negli animali adulti. Quindi si può ipotizzare la definizione di piani vaccinali che non includono l'utilizzo di vaccini contenenti il virus VRSB, tenendo comunque presente che, in questo caso, gli animali non sarebbero protetti nei confronti dell'infezione. In altri casi (presenza di forme respiratorie da VRSB), la vaccinazione per VRSB può essere limitata ai giovani animali di età superiore alle 2 settimane (Ellis J. A., May 2010).

### PI-3

Il virus della parainfluenza-3 appartiene sempre alla famiglia delle *Paramyxoviridae* (genere *Paramyxovirus*) e come il VRSB è diffuso nel periodo invernale e causa lieve sintomatologia clinica. Al contrario però di VRSB è di facile riscontro in animali molto giovani. Viene definito "virus apriporta" in quanto l'infezione spesso predispone a patologie secondarie batteriche a causa dell'invasione dei macrofagi alveolari. La colonizzazione da parte del virus dei macrofagi alveolari diminuisce la capacità di questi ultimi di fagocitare e neutralizzare i

batteri e comporta una depressione linfocitaria per inibizione della produzione di importanti mediatori dell'inflammatione ( IL-2 e Concavalin A) (Lazic S., 2009).

Gli anticorpi verso PI-3 sono evidenziabili dopo 6 settimane dall'infezione. Quindi, se si vuole effettuare una ricerca indiretta su sangue, è consigliabile effettuare almeno 2 prelievi ematici a distanza di 3 settimane l'uno dall'altro. Si consiglia di effettuare in parallelo anche un esame colturale per la ricerca di eventuali batteri.

L'unica effettiva misura profilattica efficace è la vaccinazione. Sono disponibili in commercio sia vaccini intranasali che parenterali. La prima vaccinazione può essere effettuata con un vaccino intranasale (che quasi sempre contiene più antigeni di diversi patogeni) a partire dai 14 giorni d'età, mentre il richiamo può essere effettuato con un vaccino parenterale (Ellis J. A., Novembre 2010).

## **Terapia**

Nel vitello, in caso di interessamento delle vie respiratorie, si ricorre all'antibioticoterapia precauzionale per l'alto rischio di superinfezioni batteriche, così come per le enteriti. Gli antinfiammatori non steroidei devono essere impiegati sistematicamente mentre quelli steroidei devono essere riservati per alleviare i sintomi nei soggetti maggiormente colpiti (sindrome d'insufficienza respiratoria acuta). Il potenziale svantaggio dei corticosteroidi è l'azione di soppressione antinfiammatoria non selettiva, che inibisce l'infiltrazione dei macrofagi.

Sebbene i protocolli di trattamento vengano spesso iniziati prima di effettuare una diagnosi definitiva con identificazione dell'agente causale, è importante portare avanti le indagini diagnostiche al fine di affinare il trattamento e sviluppare un protocollo strategico a lungo termine, allo scopo di controllare le malattie all'interno dell'azienda.

Il laboratorio risulta tanto più efficace, quanto più il veterinario è in grado di fornire prelievi di qualità. Bisogna quindi:

- sapere eseguire correttamente le tecniche di prelievo diagnostico (tampone nasale profondo, oculare, nasofaringeo; aspirazione trans tracheale; lavaggio bronco alveolare; esame autoptico)
- sapere quale di queste utilizzare in base al quadro clinico
- sapere le modalità di conservazione e di trasporto dei campioni.

La profilassi sanitaria è fondamentale poiché mira a ridurre i rischi di infezione, la circolazione virale e le sue conseguenze cliniche e comprende le classiche misure igieniche: separazione degli animali malati, rispetto delle norme ambientali nelle stalle (ventilazione priva di correnti d'aria) e di densità. Le transizioni alimentari devono essere graduali, i trasporti di breve durata e la gestione dell'allevamento deve essere condotta da personale specializzato e ben istruito. Un'anamnesi ben costruita dall'allevatore attraverso l'uso di tabelle valutative che attribuiscono punteggi ai vitelli (fig. 8) può aiutare maggiormente il Medico Veterinario all'arrivo in azienda, oltre a fornire un quadro complessivo dello stato sanitario degli animali.

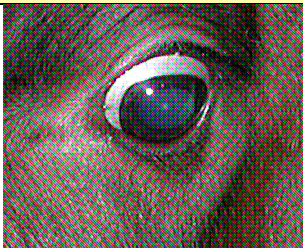
<b>TABELLA VALUTATIVA (CALF SCORE)</b>			
<b>0</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>
<b>TEMPERATURA RETTALE</b>			
37.7°C-38.5°C	38.6°C-39.0°C	39.0°C-39.4°C	> 39.4°C
<b>TOSSE</b>			
ASSENTE	SINGOLO COLPO INDOTTO	COLPI DI TOSSE RIPETUTI E OCCASIONALI	TOSSE RIPETUTA
<b>STAZIONE/DECUBITO</b>			
			
<b>SCOLO NASALE</b>			
			
<b>POSIZIONE DELLE ORECCHIE</b>			
			
<b>SECREZIONI OCULARI</b>			
			
<b>CONSISTENZA FECI</b>			
			

Fig. 8 Tabella valutativa (Bovine Neonatology, Food Animal Practice , 2009 tabella modificata di pag. 128)

# CAPITOLO III

## III.1 INDAGINI PERSONALI

### **EFFICACIA DELLA GESTIONE DEL VITELLO DA LATTE DALLA NASCITA ALLO SVEZZAMENTO IN RELAZIONE ALLE PATOLOGIE E ALLA MORTALITA' NEONATALE E PERINATALE**

La mortalità neonatale nell'allevamento della bovina da latte è, in media, pari al 5-20% e metà dei casi vengono registrati nei due giorni successivi al parto. Il periodo neonatale è favorevole all'insorgenza di patologie respiratorie e gastroenteriche per ragioni riconducibili al microbismo ambientale e alle carenze immunitarie dei neonati. Questa fase è caratterizzata da 3 cambiamenti fisiologici stressanti: la nascita, la formazione di gruppi e lo svezzamento, che rappresenta un periodo tanto più critico in base alle metodiche utilizzate. Le patologie neonatali rappresentano un danno economico per l'allevatore, in termini di perdite dirette (mortalità) e indirette (ritardo di crescita, problemi riproduttivi e presenza di animali con patologie croniche).

Nella presente indagine sono state poste a confronto due diverse metodiche di gestione del vitello neonato, inoltre è stata rilevata l'incidenza delle patologie e della mortalità neonatale e perinatale. Durante l'anno 2008 sono stati presi in esame 1525 vitelli da latte di età compresa da 1 a 110 giorni (media=55,5), suddivisi in 2 gruppi (A e B), appartenenti rispettivamente a un'azienda della provincia di Milano e a un'azienda della provincia di Brescia. Le aziende, simili per consistenza numerica, struttura (stabulazione libera con cuccette per le vacche in lattazione e stabulazione libera con lettiera permanente per le vacche in asciutta), per regime alimentare (tipo unifeed) e destinazione del prodotto (latte alimentare, produzione di formaggi teneri e formaggio grana padano), si sono rivelate molto diverse per la gestione sanitaria delle vacche in asciutta e dei vitelli neonati.

Il **gruppo A** è stato gestito secondo la seguente linea: vaccinazione delle madri a 15 giorni dal parto con Rotavec<sup>®</sup> corona (*Schering-Plough,NZ*); separazione immediata dalla madre al momento del parto con stabulazione in box singoli e lettiera in paglia, somministrazione di 15 mg/kg di ferro destrano IM (Endofer<sup>®</sup> 20, *Fatro*, s.p.a Italia), disinfezione del cordone ombelicale con ossitettraciclina (Neo spray caf<sup>®</sup>, *Gellini*, International S.r.l). Nei primi 4 giorni di vita, sono stati somministrati 6 l di colostro di mungitura, suddivisi in due pasti giornalieri. Successivamente alla fase colostrale, i vitelli sono stati alimentati per 8 giorni con 400g di latte in polvere acidificato ricostituito in 5 l di acqua (Sprayfo Vitesse<sup>®</sup>, *Sloten*, BV), suddivisi in due pasti. A ogni pasto, nel latte ricostituito, sono stati aggiunti 50 mg/kg di colistina solfato (Colistina solfato liquida 12%, *Dox*, AL) e 30 mg/kg di Amminosidina (Amminosidina liquida 20%, *Ceva Vetem*, Italia S.p.A). Sia il colostro che il latte sono stati distribuiti attraverso secchi con tettarella alta. I vitelli maschi sono stati venduti a 12 giorni di età. Le femmine sono state inserite all'interno di due recinti forniti di lupa (distributrice automatica di latte), ciascuno dei quali ne ospitava circa 30. Al momento dello spostamento nei recinti, i box sono stati disinfettati con calce idrata e le vitelle hanno ricevuto un trattamento anticoccidi con 15 mg di Baycox<sup>®</sup> Bovis S.O. (*Bayer*, Italia). Per mezzo della lupa sono stati somministrati 1,5 l di latte ogni 6 ore per 30 giorni. Dopo il 30° giorno la lupa è

stata programmata per calare progressivamente la quantità di latte fino alla sospensione completa entro il 40° giorno (svezzamento ultimato). Per tutta la permanenza le vitelle hanno avuto a disposizione mangime da svezzamento e fieno ad libitum. In presenza di patologie gastroenteriche è stata effettuata una terapia con una somministrazione di 10g/100kg di Colistina solfato S.O. (Bacolam<sup>®</sup>, *Fatro*, S.p.A,Italia) e 2 compresse effervescenti reidratanti (Effydral<sup>®</sup>, *Fort Dodge Animal Health*, NL) diluite in 2 l di acqua, fino alla scomparsa della sintomatologia. In presenza di sindrome respiratoria è stata effettuata una terapia con una somministrazione di 2.2mg/kg di Flunixin meglumina e.v. (Alivios<sup>®</sup>, *Fatro*, s.p.a Italia) per 3 giorni e di 40mg/kg I.M. di ampicillina sodica (Vetamplus<sup>®</sup>, *Fatro*, S.p.A Italia) per 6 giorni. Le vaccinazioni sono state effettuate nelle vitelle di 3 mesi con Bovilis IBR<sup>®</sup> marker (*Intervet*, Italia) e con Mucosiffa<sup>®</sup> (*Merial*, Italia), a 6 mesi con Ibraxion IBR<sup>®</sup> (*Pfizer*, Italia) e Mucobovin BVD<sup>®</sup> (*Merial*, Italia).

Nel **gruppo B**, la gestione sanitaria e aziendale ha seguito la seguente linea: separazione immediata dalla madre al momento del parto e stabulazione in box singoli con lettiera in paglia, somministrazione di 2l di colostro di mungitura per 3 giorni. Successivamente alla fase colostrale sono stati somministrati (per 8 giorni) 4l di latte di mungitura pastorizzato suddivisi in due pasti giornalieri. Il colostro e il latte sono stati somministrati in secchi senza tettarella. A ogni pasto, nel latte pastorizzato, è stata aggiunta Amminosidina (Amminosidina liquida<sup>®</sup> 20%, *Ceva Vetem*, Italia). I vitelli maschi sono stati venduti a 12 giorni di età e le femmine inserite all'interno di due recinti forniti di lupa. Ciascun recinto ospita circa 50 vitelle. La disinfezione dei box è stata effettuata con calce idrata o con sali quaternari di ammonio. La quantità giornaliera di latte è stata la medesima somministrato del gruppo A, ma lo svezzamento è stato effettuato al 110° giorno di età. Durante la permanenza nei recinti le vitelle hanno avuto a disposizione unifeed secco. In caso di patologie, sia enteriche che respiratorie, è stata utilizzata la seguente terapia: 2mg/kg di marbofloxacin I.M. (Marbocyl<sup>®</sup>10%, ATI S.r.l) e 15mg/kg I.M. di amoxicillina triidrato (Clamoxyl long acting<sup>®</sup>, *Pfizer*, Italia). Non sono stati effettuati piani vaccinali durante il periodo dello studio. I dati raccolti riguardanti i due gruppi di vitelli da latte sono riassunti nella tabella 1.

Tab.1-principali patologie e mortalità neonatale e perinatale all'interno dei due gruppi di vitelli da latte presi in esame durante l'anno 2008.

<b>Gruppi</b>	<b>N° vitelli</b>	<b>Vitelli con diarrea (N° e %)</b>	<b>Vitelli con patologie respiratorie (N° e %)</b>	<b>Mortalità (N° e %)</b>
A	825	50 (6,1%) <sup>°</sup>	42 (5,1%)*	33 (4%) <sup>°°</sup>
B	700	200 (28,5%) <sup>°</sup>	120 (17,1%)*	175 (25%) <sup>°°</sup>

<sup>°</sup> Il confronto è altamente significativo ( $X^2=140,01$ )  $P < 0,0001$

\* Il confronto è altamente significativo ( $X^2=57,93$ )  $P < 0,0001$

<sup>°°</sup> Il confronto è altamente significativo ( $X^2=141,78$ )  $P < 0,0001$

I dati della tab.1 mostrano che nel **gruppo A**, su un totale di 825 vitelli da latte, 50 individui hanno presentato diarrea neonatale (pari al 6,1%), 42 individui sono affetti da patologia respiratoria (pari al 5,1%) e 33 individui sono giunti a morte (con un tasso di mortalità pari al 4%). Nel **gruppo B**, composto da 700 vitelli, 200 individui sono affetti da diarrea (pari al 28,6%), 120 individui sono colpiti da patologia respiratoria (pari al 17,1%) e 175 individui sono giunti a morte (con un tasso di mortalità pari al 25%). In particolare il confronto diretto tra le percentuali dei vitelli con diarrea ha evidenziato differenze significative tra il gruppo A e il gruppo B ( $X^2=140,01$ ;  $P<0,0001$ ), così come il confronto tra le percentuali nei due gruppi delle patologie respiratorie ( $X^2=57,93$ ;  $P<0,0001$ ) e della mortalità ( $X^2=141,78$ ;  $P<0,0001$ ) risulta altamente significativo. La seguente indagine mette in evidenza come nel gruppo B sia molto più elevata e significativa la presenza di patologie e di mortalità neonatali rispetto al gruppo A.

Una buona gestione dell'allevamento della bovina da latte deve comprendere un'efficiente gestione delle vacche in asciutta e dei vitelli, al fine di migliorare lo sviluppo fisiologico, la capacità produttiva e soprattutto la resa e la rimonta della mandria. Se la mortalità neonatale è troppo elevata non vi sarà una rimonta sufficiente a coprire le perdite aziendali. La prevenzione con un accurato piano profilattico vaccinale associata a piani terapeutici mirati, risulta essere più efficace in confronto al solo trattamento antibiotico, vista l'elevata contagiosità delle diarree neonatali e delle sindromi respiratorie. Una gestione errata della quantità, della qualità e della somministrazione del colostro può impedire un adeguato trasferimento dell'immunità passiva materna, mentre un'errata alimentazione del vitello nella fase dello svezzamento può predisporre all'insorgenza di stati stressanti influenzando negativamente sulla capacità di accrescimento, sulla riproduzione e sulla produzione latte futura.

## **INDAGINE PRELIMINARE SULL'IMMUNITA' PASSIVA TRASMESSA AI VITELLI DA LATTE E CORRELAZIONE CON LA DIARREA NEONATALE E PERINATALE**

I vitelli nascono con un'esigua percentuale di immunoglobuline sieriche a causa dello scarso trasferimento placentare di immunità materna. Il colostro, particolarmente ricco di immunoglobuline, consente il trasferimento dell'immunità materna al vitello, che acquisisce una protezione indispensabile per le prime settimane di vita, in attesa di produrre i propri anticorpi. L'immunizzazione delle vacche durante la gestazione con vaccino polivalente contenente sub-unità antigeniche dei principali agenti patogeni che causano diarrea neonatale, conferisce una valida protezione passiva nei vitelli. La diarrea neonatale rappresenta un danno economico per l'allevatore, in termini di perdite dirette (mortalità) e indirette (ritardo di crescita, problemi riproduttivi e presenza di animali con patologie croniche). Lo scopo della presente indagine è quello di determinare i livelli di IgG sieriche in vitelli da latte attraverso il test della Torbidità al Solfato di Sodio ed evidenziare il ruolo dell'immunità passiva nella diarrea neonatale.

Durante i mesi di Marzo e Aprile 2010 sono stati presi in esame i sieri di 53 vitelli da latte di età compresa tra 1 e 10 giorni, suddivisi in 2 gruppi: Il Gruppo A, composto da 26 vitelli ( di cui 12 con diarrea e 14 sani), e il Gruppo B, composto da 27 vitelli ( di cui 8 con diarrea e 19 sani), appartenenti rispettivamente a un'azienda della provincia di Milano e a un'azienda della provincia di Brescia. Le aziende erano simili per consistenza numerica (2000 capi l'azienda di

Milano e 3000 capi l'azienda di Brescia), struttura (stabulazione libera con cuccette per le vacche in lattazione e stabulazione libera con lettiera permanente per le vacche in asciutta), per regime alimentare (tipo unifeed), destinazione del prodotto (latte alimentare, produzione di formaggi teneri e formaggio grana padano) e piano vaccinale delle vacche in asciutta (vaccinazione a 20 giorni dal parto con Rotavec □ corona, *Schering-Plough*, NZ). All'arrivo nelle aziende si sono raccolti i dati identificativi dei vitelli sani e dei vitelli che presentavano diarrea. I campioni di sangue per il nostro studio sono stati prelevati con siringhe sterili da 5 ml dalla vena giugulare, raccolti in provette di tipo Vacutainer da 5 ml consegnati al laboratorio di Malattie Infettive dell'Università di Medicina Veterinaria di Parma. La concentrazione delle IgG è stata determinata attraverso il test della Torbidità al Solfato di Sodio. Sono state preparate tre soluzioni a concentrazioni diverse di solfato di sodio (14%, 16% e 18%) e in tre provette sterili sono stati aggiunti 1.9 mL di ciascuna soluzione con 0.1 ml dello stesso siero. La lettura del test è stata effettuata attraverso la torbidità delle immunoglobuline precipitate nelle soluzioni. Il Fallimento della Trasmissione Passiva di immunità (FPT) è stato stabilito per sieri contenenti concentrazioni di IgG inferiori a 800 mg/dl, il parziale fallimento per sieri contenenti IgG tra 800-1000 mg/dl mentre sono stati considerati normali i sieri contenenti concentrazioni di IgG > 1000 mg/dl. I risultati dei sieri sono stati correlati con lo stato di salute dei vitelli, sottoposti ad analisi statistica ( Chi-Square test e SPSS vers. 16 Chicago, Il) e riassunti nella tab.1

Tab.1-Concentrazioni sieriche di IgG all'interno dei due gruppi di vitelli da latte presi in esame durante i mesi di Marzo, Aprile e Maggio 2010 in relazione alla diarrea neonatale

<b>Gruppi</b>	<b>N° totale vitelli</b>	<b>vitelli con diarrea (N° e %) e IgG &lt; 800 mg/dL</b>	<b>vitelli con diarrea (N° e %) e IgG tra 800-1000 mg/dL</b>	<b>vitelli con diarrea (N° e %) e IgG &gt; 1000 mg/dL</b>	<b>vitelli sani (N° e %) e IgG &lt; 800 mg/dL</b>	<b>vitelli sani (N° e %) e IgG tra 800-1000 mg/dL</b>	<b>vitelli sani (N° e %) e IgG &gt; 1000 mg/dL</b>
<b>A</b>	26	8(30.8%)	2 (7.7%)	2 (7.7%)	1 (3.8%)	4 (15.4%)	9 ( 34.6%)
<b>B</b>	27	1 (3.7%)	7 (25.9%)	0	0	8 (29.6%)	11(40.7%)
	53	9(17%)●	9(17%)⊠	2(3.8%)*	1(1.9%)●	12(22.6%)⊠	20(37.7%)*

● confronto altamente significativo P< 0,01

\* confronto altamente significativo P< 0,01

⊠ confronto non significativo P= 0,513

I dati raccolti nella tab.1 mostrano che nel gruppo A, tra gli animali con diarrea, il 30.8% degli individui ha una concentrazione sierica di IgG <800 mg/dl, il 7.7% IgG comprese tra 800-1000 mg/dl e il 7.7% IgG > 1000 mg/dl. Tra gli animali sani, invece, il 3.8% degli

animali ha una concentrazione sierica di IgG <800 mg/dl, il 15.4% ha IgG comprese tra 800-1000 mg/dl e il 34.6% ha IgG > 1000 mg/dl. Nel gruppo B, tra gli animali con diarrea, il 3.7% ha IgG <800 mg/dl, il 25.9% ha IgG comprese tra 800-1000 mg/dl mentre nessun animale con diarrea risulta avere IgG > 1000 mg/dl. Tra gli animali sani nessuno presenta livelli di IgG <800 mg/dl, mentre il 15.4% presenta IgG compresa tra 800-1000 mg/dl e il 34.6% ha IgG > 1000 mg/dl. L'elaborazione statistica di ogni singolo dato relativo alla concentrazione delle IgG nei sieri e dello stato di salute dei vitelli, ha evidenziato una correlazione altamente significativa (spearman's rho = -,594) tra livelli bassi di IgG e vitelli con diarrea e tra livelli alti di IgG e vitelli sani sia per il gruppo A che per il gruppo B. In questo studio si è osservato che, in generale, il livello di IgG è risultato essere basso in corso di diarrea neonatale e alto negli animali sani, ma che il sintomo è stato anche rilevato in due animali (pari al 3.8 % sul totale) con un'adeguato livello di immunità passiva e che un individuo (pari all'1.9% sul totale) con IgG < 800 mg/ml è risultato essere comunque sano.

Questo può essere spiegato dal fatto che la concentrazione sierica di Immunoglobuline è uno dei fattori più importanti che influenzano lo stato sanitario degli animali, ma non l'unico, tra i quali non si devono dimenticare il management e la molteplice varietà di agenti patogeni infettivi. L'adeguato trasferimento dell'immunità passiva materna rimane comunque il punto di partenza nella riduzione della percentuale di diarrea neonatale e perinatale e nella riduzione dei costi dei trattamenti terapeutici e di rimonta aziendale.

## **III.2 ABSTRACTS**

### **EFFECTIVENESS OF DAIRY CALVES MANAGEMENT FROM BIRTH TO WEANING IN RELATION TO NEONATAL AND PERINATAL PATHOLOGIES AND MORTALITY**

The aim of this study was to investigate the efficacy of the management in relation with pathologies and neonatal and perinatal mortality. The Authors conducted a study on a total of 1525 dairy calves aged from 1 to 110 days (mean=55,5), divided in two groups (A and B) and belonging to 2 dairy farms located in the northern Italy (in Milan and in Brescia province respectively), similar for stabulation, feeding programs and destination of milk production, but different for the management of the calves. The results obtained from the comparison between group A and group B ( $P < 0,0001$ ) showed that the management is essential for controlling and preventing pathologies and mortality in the calves.

### **PRELIMINARY INVESTIGATION ON PASSIVE IMMUNITY IN DAIRY CALVES AND CORRELATION WITH NEONATAL AND PERINATAL DIARRHEA**

The aim of this study was to determine IgG levels during the neonatal period, to emphasize the role of IgG in calf diarrhea. A blood sample was collected from 53 dairy calves aged from 1 to 10 days, divided in two group (group A with 12 diarrheic and 14 healthy calves and group B with 8 diarrheic and 19 healthy calves. Serum IgG levels were measured by Sodium Sulfite Turbidity test. Calves were classified as having failure (<800 mg/dl), partial failure (800-1000 mg/dl), or normal passive transfer (>1000 mg/dl) on the basis of their serum IgG concentration. The results showed a statistical correlation (Spearman's rho = -,594;  $P < 0.01$ ) between low levels of IgG and calves with diarrhea and between high levels of IgG and healthy calves

## **BIBLIOGRAFIA**

- **Alborali L., Zaroni M. G., Lavazza A., Salogni C., Giovannini S., Cordioli P.** Diagnosi anatomo-patologica e di laboratorio delle principali enteriti neonatali del vitello, *Large Animal Review*, anno 12, n. 5, Ottobre **2006**;
- **Ameri M., Wilkerson M. J.** Comparison of two commercial radial immunodiffusion assays for detection of bovine immunoglobulin G in newborn calves, *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, vol. 20, n. 3, pp. 333-336, **2008**;
- **Antonis A. F. G., De Jong M. C., Van der Poel W. H. M., Van der Most R. G., Stockhofe-Zurwieden N., Kimman T., Schrijver R. S.** Age-dependent differences in the pathogenesis of bovine respiratory syncytial virus infections related to the development of natural immunocompetence, *Journal of General Virology*, vol. 91, pp. 2497-2506, **2010**;
- **Arnaudo F.** La diarrea neonatale del vitello, supplemento a *Large Animal Review*, n. 4, Agosto **2009**;
- **Barberio A.** Patogeni emergenti nel latte: il ruolo di salmonella spp., V° Congresso annuale Mastitis Council Italia, [www.mastitalia.org/mastitalia/convegno.htm](http://www.mastitalia.org/mastitalia/convegno.htm), **2007**;
- **Berchtold J. F., Constable P. D., Smith G. W., Mathur S. M., Morin D. E., Tranquilli W. J.** Effects of Intravenous Hyperosmotic Sodium Bicarbonate on Arterial and Cerebrospinal Fluid Acid-Base Status and Cardiovascular Function in Calves with Experimentally Induced Respiratory and Strong Ion Acidosis, *Journal of Veterinary Internal Medicine*, vol. 19, n. 2, pp. 240-251, **2005**;
- **Bielmann V., Gillan J., Perkins N. R., Skidmore A. L., Godden S., Leslie K. E.** An evaluation of Brix refractometry instruments for measurement of colostrum quality in dairy cattle, *Journal of Dairy Science*, vol. 93, pp. 3713-3721, **2010**;

- **Borghan M. A., Mori Y., El-Mahmoudy A., Ito N., Sugiyama M., Takewaki T., Minamoto N.** Induction of nitric oxide synthase by rotavirus enterotoxin NSP4: implication for rotavirus pathogenicity, *Journal of General Virology*, vol. 88, pp. 2064-2072, **2007**;
- **Burciaga-Robles L. O., Step D. L., Krehbiel C. R., Holland B. P., Richards C. J., Montelongo M. A., Confer A. W., Fulton R. W.** Effects of exposure to calves persistently infected with bovine viral diarrhea virus type 1b and subsequent infection with *Mannheimia haemolytica* on clinical signs and immune variables: Model for bovine respiratory disease via viral and bacterial interaction, *Journal of Animal Science*, vol. 88, pp. 2166-2178, **2010**;
- **Campbell J. M., Russel L. E., Crenshaw J. D., Weaver E. M., Godden S., Quigley J. D., Coverdale J., Tyler H.** Impact of irradiation and immunoglobulin G concentration on absorption of protein and immunoglobulin G in calves fed colostrums replacer, *Journal of Dairy Science*, vol. 90, pp. 5726- 5731, **2007**;
- **Cardelli M.** Dal vitello alla manza, ed. Le Point Veterinaire, Ottobre **2005**;
- **Cavirani S.** Complesso Malattia Respiratoria del Bovino. Interazione tra agenti patogeni e sistema immunitario. [www.buiatria.it/files/gb.htm](http://www.buiatria.it/files/gb.htm), **2008**;
- **Cavirani S.** Ruolo di *Mannheimia haemolytica* nel contesto di forme respiratorie del vitello e della vacca, *Large Animal Review*, n. 13, pp 221-221, **2007**;
- **Colombo M.** Le diagnosi differenziali nelle enteriti neonatali del vitello, *Large Animal Review*, anno 12, n. 5, pp. 37-41, Ottobre **2006**;
- **Constable P. D.** Clinical assessment of acid-base status. Strong ion difference theory, *Veterinary Clinics of North America, Food Animal Practice*, vol. 15, n. 3, pp. 447-471, **1999**;
- **Constable P. D.** Differenza fra ioni forti: nuove applicazioni nella medicina dei bovini, Atti del 12° Congresso Nazionale Multisala SIVAR, Cremona, pp. 31-32, 7-8 Maggio **2010**;
- **Constable P. D.** Patogenesi e diagnosi delle enteropatie nei vitelli, Atti del 12° Congresso Nazionale Multisala SIVAR, Cremona, pp. 27-28, 7-8 Maggio **2010**;

- **Constable P. D.** Principi di trattamento della diarrea del vitello, Atti del 12° Congresso Nazionale Multisala SIVAR, Cremona, pp. 28-29, 7-8 Maggio 2010;
- **Constable P. D.** Terapia reidratante per via orale o endovenosa, Atti del 12° Congresso Nazionale Multisala SIVAR, Cremona, pp. 30-31, 7-8 Maggio 2010;
- **Constable P. D., Morin D. E., Thurmon J. C.** Use of hypertonic saline-dextran solution to resuscitate hypovolemic calves with diarrhea, *AJVR*, vol. 57, n. 1, January 1996;
- **Constable P. D., Walker P. G., Morin D. E., Foreman J. H.** Clinical and laboratory assessment of hydration status of neonatal calves with diarrhea, *JAVMA*, vol. 212, n. 7, April 1998;
- **Coskun A., Sen I., Guzelbektes H., Ok M., Turgut K., Canikli S.** Comparison of the effects of intravenous administration of isotonic and hypertonic sodium bicarbonate solutions on venous acid-base status in dehydrated calves with strong ion acidosis, *JAVMA*, vol. 236, n. 10, pp. 1098-1103, 2010;
- **Dagleish M. P., Finlayson J., Bayne C., MacDonald S., Sales J., Hodgson J. C.** Characterization and time course of pulmonary lesions in calves after intratracheal infection with *Pasteurella multocida* A:3, *Journal of Comparative Pathology*, vol.142, pp 157-169, 2010;
- **Dinsmore P., Skidmore A.** Comparison of Brix (sugar) refractometer and colostrometer for evaluation of colostrum quality in dairy cows, *Journal of Dairy Science*, vol. 91 (E-suppl. 1), p. 355, 2008;
- **Duranti A., Cacciò S. M., Pozio E., Di Egidio A., De Curtis A., Battisti A., Scaramozzino P.** Risk factors associated with *Cryptosporidium parvum* infection in cattle, *Zoonoses and Public Health*, vol.56, pp. 176-182, 2008;
- **Ellis J. A.** Bovine parainfluenza-3 virus, *Veterinary clinics of North America: Food animal practice*, ed. Elsevier, vol. 26, n. 3, pp 575-593, November 2010;
- **Esmail S. H. M.** Factors affecting colostrum Ig utilisation by calves, *FEED MIX*, vol. 9, n. 3, pp. 32-34, 2001;
- **Ewaschuk J. B., Naylor J. M., Zello G. A.** D-lactate in human and ruminant metabolism, *Journal of Nutrition*, vol. 135, n.7, pp. 1619-1625, 2005;

- **Feldman B. F., Zinkl J. G., Jain N. C.** Schalm's Veterinary Hematology, ed. Blackwell, p. 944, **2006**;
- **Godden S.** Colostrum management in dairy calves, *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, vol. 24, pp.19-39, **2008**;
- **Godden S. M., Haines D. M., Hagman D.** Improving passive transfer of immunoglobulins in calves. I: Dose effect of feeding a commercial colostrums replacer, *Journal of Dairy Science*, vol. 92, pp. 1750-1757, **2009**;
- **Gressley T. F.** Zinc, copper, manganese and selenium in dairy cattle rations, Proceedings of the 7<sup>th</sup> annual mid-Atlantic nutrition conference, Zimmermann, N. G., ed. University of Maryland, pp. 65-71, **2009**;
- **Grove-White D. H.** Rianimazione del vitello neonato, *Large Animal Review*, anno 11, n. 4, pp. 3-7, Agosto **2005**;
- **Gulliksen S. M., Lie K. I., Solverod L., Osteras O.** Risk factors associated with colostrum quality in norwegian dairy cows, *Journal of Dairy Science*, vol. 91, pp. 704-712, **2008**;
- **Guzelbektes H., Coskun A, Ismail S.** Relationship between the degree of dehydration and the balance of acid-based in dehydrated calves with diarrhoea, *Bulletin of the Veterinary institute in Pulawy*, vol. 51, pp. 83-87, **2007**;
- **Hallowell G. D., Potter T. J.** La terapia fluida endovenosa nel bovino, *Summa*, animali da reddito, ed. PVI, n. 5, giugno **2010**;
- **Houser B. A., Donaldson S. C., Kehoe S. I., Heinrichs A. J., Jayarao B. M.** A survey of bacteriological quality and the occurrence of Salmonella in raw bovine colostrum, *Foodborne Pathogens and Disease*, vol. 5, pp. 555-563, **2008**;
- **Jayappa H., Davis R., Dierks L., Sweeney D., Wasmoen T.** Demonstration of passive protection in neonatal calves against colibacillosis following immunization of pregnant heifers at 3 months of gestation, *Veterinary Therapeutics*, vol.9, n. 4, Winter **2008**;
- **Jones, C. M., James R. E., Quigley J. D., McGilliard M. L.** Influence of pooled colostrum or colostrum replacement on IgG and evaluation of animal plasma in milk replacer, *Journal of Dairy Science*, vol. 87, pp. 1806-1814, **2004**;

- **Kasari T. R.** Physiologic mechanism of adaption in the fetal calf at birth, *Veterinary Clinics of North America, Food Animal Practice*, vol. 10, pp. 127-136, **1994a**;
- **Kasari T. R.** Weakness in the newborn calf, *Veterinary Clinics of North America, Food Animal Practice*, vol. 10, pp. 167-180, **1994b**;
- **Keel M. K., Songer J. G.** The comparative pathology of *Clostridium difficile*-associated disease, *Veterinary Pathology*, vol.43, n. 3, **2006**;
- **Kehoe, S. I., Jayarao B. M., Heinrichs A. J.** A survey of bovine colostrum composition and colostrum management practices on Pennsylvania dairy farms, *Journal of Dairy Science*, vol. 90, pp. 4108-4116, **2007**;
- **Lazic S., Petrovic T., Bugarski D., Kendrisic N.** Complex of respiratory diseases in cattle from the aspect of parainfluenza-3 virus, *Biotechnology in Animal Husbandry*, vol. 25, pp. 703-711, **2009**;
- **Lorenz I.I.** Investigations on the influence of serum D-lactate levels on clinical signs in calves with metabolic acidosis, *The Veterinary Journal*, vol. 168, n. 3, pp. 323-327, **2004**;
- **Lorino T. T., Daudin J. J., Robin. S., Sanaa M.** Factors associated with time to neonatal diarrhoea in French beef calves, *Preventive Veterinary Medicine*, vol. 68, pp. 91-102, **2005**;
- **Loveland J., Kesler E. M., Doores S.** Fermentation of a mixture of waste milk and colostrum for feeding young calves, *Journal of Dairy Science*, vol. 66, pp.1312-1318, **1983**;
- **Magnani E., Di Ianni F., Parmigiani E., Morini G., Piancastelli C., Ghidini F., Bresciani C.** Indagine preliminare sull'immunità passiva trasmessa ai vitelli da latte e correlazione con la diarrea neonatale e perinatale, LXIV Annual meeting of the Italian Society for Veterinary Science (SISVET), Asti 7-10 Settembre, pp. 73-74, **2010**;
- **Magnani E., Di Ianni F., Parmigiani E., Morini G., Vecchi I., Bresciani C.** Efficacia della gestione del vitello da latte dalla nascita allo svezzamento in relazione alle patologie e alla mortalità neonatale e perinatale, LXIII Annual meeting of the Italian Society for Veterinary Science (SISVET), Udine 16-18 Settembre, pp. 73-75, **2009**;

- **Maillard R.** Composizione e ruolo del colostro nel bovino, *Riproduzione dei ruminanti: gestazione, neonatologia e post partum, collana di SUMMA*, pp. 97-100, Dicembre **2007**;
- **Mee J. F.** Resuscitation of newborn calves - materials and methods, *Cattle Practice 2*, pp. 197-210, **1994**;
- **Mohri M., Poorsina S., Sedaghat R.** Effects of parenteral supply of iron on RBC parametres, performance and health in neonatal dairy calves, *Biological Trace Element Research*, vol.136, pp. 33-39, **2010**;
- **Moretti B.** Fisiopatologia della diarrea neonatale del vitello, *Large Animal Review*, anno 4, n. 3, pp. 25-34, Settembre **1998**;
- **Morin D. E., Constable P. D., Maunsell F. P., McCoy G. C.** Factors associated with colostrum specific gravity in dairy cows, *Journal of Dairy Science*, vol. 84, pp. 937-943, **2001**;
- **Morin D. E., Nelson S. V., Reid E. D., Nagy D. W., Dahl G. E., Constable P. D.** Effect of colostrum volume, interval between calving and first milking, and photoperiod on colostrum IgG concentrations in dairy cows, *JAVMA*, vol. 237, n. 4, pp. 420420-428, August **2010**;
- **Morrel E. L., Moore D. P., Odeon A. C., Poso M. A., Odriozola E., Canton G., Paolicchi F., Malena R., Leunda M. R., Morsella C., Campero M. C.** Retrospective study of bovine mortality: cases reported from INTA Balcarce, Argentina, *Revista Argentina de Microbiologia*, vol. 40, pp. 151-157, **2008**;
- **Nagy D.W.** Resuscitation and critical care of neonatal calves, *Veterinary Clinics of North America, Food Animal Practice*, vol. 25, n. 1, pp. 1-11, **2009**;
- **Nappert G.** Gastroenterite neonatale e disidratazione: approccio diagnostico e terapeutico, *Large Animal Review*, anno 11, n. 5, pp. 27-31, ottobre **2005**;
- **Nasr E. M., Meghawery M. A.** Studies on diarrhea in calves with emphasis on the role of *Clostridium perfringens* and *Escherichia coli*, *Research Journal of Animal and Veterinary Science*, vol. 2, pp. 28-33, **2007**;
- **Peli A.** Normativa nazionale ed europea sul benessere. [www.buiatria.it/files/gb.htm](http://www.buiatria.it/files/gb.htm), **2010**;
- **Pithua P., Godden S. M., Wells S. J., Oakes M.** Efficacy of feeding plasma-derived commercial colostrums replacer for the prevention of transmission of

*Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in Holstein colostrums, *JAVMA*, vol. 234, pp. 1167-1176, 2009;

- **Pollera C., Lauzi S., Riccaboni P., Rondena M., Pravettoni D., Ponti W.** Caratterizzazione genetica di ceppi di *Escherichia coli* isolati da vitelli mediante *microarray* miniaturizzati, *Buiatria*, vol.3, n.1, 2008;
- **Potter T.** La polmonite nel vitello, *Summa*, vol. 8, pp. 29-31, Ottobre 2008;
- **Quici G.** Atlante di clinica del vitello, ed. Edagricole, 1993;
- **Quigley J. D.** Gestione del colostro nel vitello neonato, *Large Animal Review*, anno 16, n. 5, pp. 233-238, Ottobre 2010;
- **Radaelli E., Burigana N., Ripamonti G., Loria G. R., Luini M., Nicholas R. A. J., Scanziani E.** Patologia respiratoria da *Mycoplasma bovis* in vitelli e bovini adulti da macello del nord Italia, Atti del 3° Congresso Nazionale AIPVet, Pisa, 11-13 Maggio 2006;
- **Rosignoli C.** Le clostridiosi del bovino: diagnosi e controllo, *Buiatria*, vol.3, n.4, pp. 27-56, 2008;
- **Smith G. W.** Bovine neonatology, *Veterinary clinics of North America: Food animal practice*, ed. Elsevier, Vol. 25 n. 1, March 2009;
- **Stabel J. R.** Pasteurization of colostrum reduces the incidence of paratuberculosis in neonatal dairy calves, *Journal of Dairy Science*, vol. 91, pp. 3600-3606, 2008;
- **Stelwagen K., Carpenter E., Haigh B., Hodgkinson A., Wheeler T. T.** Immune components of bovine colostrum and milk, *Journal of Animal Science*, vol. 87 (Suppl. 1), pp. 3-9, 2009;
- **Tarantino M. M.** Manuale Emogas, Elettroliti, Metaboliti: fisiopatologia e biochimica clinica, ed. A De Mori, 2000;
- **Toombs R. E., Wikse S. E., Kasari T. R.** The incidence, causes, and financial impact of perinatal mortality in North American beef herds, *Veterinary clinics of North America: Food animal practice*, ed. Elsevier, vol. 10, n. 1, March 1994;
- **Trotz-Williams L. A., Martin S. W., Leslie K. E., Duffield S. W., Nydam D. V., Peregrine A. S.** Association between management practices and within-herd prevalence of *Cryptosporidium parvum* shedding on dairy farms in southern Ontario, *Journal of Dairy Science*, vol 91, pp. 3840-3849, 2008;

- **Tyler J. W., Hancock D. D., Parish S. M., Rea D. E., Besser T. E., Sanders S. G., Wilson L. K.** Evaluation of 3 assays for failure of passive transfer in calves *Journal of Veterinary Internal Medicine*, Vol. 10, n. 5, September-October **1996**;
- **Uystepuyst C.** Fisiologia e rianimazione neonatale del vitello, *Riproduzione dei ruminanti: gestazione, neonatologia e post partum, collana di SUMMA*, pp. 89-96, Dicembre **2007**;
- **Valla G.** Virus della diarrea virale del bovino (BVVDV): strategie di controllo, ed. AGF Italia, Settembre **2008**;
- **Valla G.** Virus della rinotracheite infettiva del bovino (BoHV-1), ed. AGF Italia, **2010**;
- **Viganò F.** Capire l'emogasanalisi: un metodo semplice per interpretare i più comuni disturbi acido base, *Veterinaria*, anno 16, n. 1, Febbraio **2002**;
- **Weiss W. P.** Selenium nutrition of cattle: an update, Proceedings Pacific Northwest Nutrition Conference, pp. 1-10, **2002**;
- **White B. J., Hanzlicek G., Sanderson M. W., Anderson D. E., Larson R. L.** Mollicutes species and Mycoplasma bovis prevalence and association with health outcomes in beef feeder calves at arrival and initial treatment for bovine respiratory disease, *Canadian Veterinary Journal*, vol. 51, pp. 1016-1018, **2010**;

