



Modalità operative

Chi sono i destinatari del corso FAD?

Il corso, accreditato presso la Conferenza Nazionale per la Formazione Continua, è rivolto alla categoria dei medici veterinari.

È importante essere abbonati a *SUMMA Animali da reddito* per accedere al corso FAD?

Per gli abbonati a *SUMMA Animali da reddito* sono previste condizioni riservate e particolarmente vantaggiose.

Come si svolge il corso?

Il corso è composto da 9 dossier (materiale formativo) pubblicati in successione su *SUMMA Animali da reddito* a partire da gennaio/febbraio 2014 (SUMMA n. 1) e fino a dicembre 2014 (SUMMA n. 10). Soltanto il numero monotematico in uscita a maggio 2014 (SUMMA n. 4) NON conterrà alcun dossier riferito al corso FAD.

Come si ottengono i crediti ECM?

Per ottenere i crediti ECM è necessario seguire questi semplici passaggi:

Lettura dei Dossier

I dossier pubblicati in successione sui numeri di *SUMMA Animali da reddito* durante l'anno 2014 rappresentano il materiale formativo e di studio. Si presentano come articoli scientifici, contraddistinti sulla pagina da uno specifico richiamo al corso FAD.

Sono consultabili anche in formato digitale, accedendo alla versione on line del periodico su www.pointvet.it.

Registrazione/Login su www.pviformazione.it

L'utente deve attivare un account all'indirizzo <http://fad.pviformazione.it/accedi>. L'operazione è gratuita e senza obbligo di acquisto. Naturalmente chi avesse già un account su questa piattaforma NON deve crearne uno nuovo, ma può utilizzare quello esistente.

Acquisto del questionario

Gli abbonati a *SUMMA Animali da reddito* possono ac-

quistare dall'account personale il SOLO questionario di valutazione dell'apprendimento al prezzo riservato di **€ 36,00 (IVA inclusa)**.

Attestato ECM

Superato il questionario di valutazione dell'apprendimento e compilato il questionario di valutazione della qualità percepita, è possibile dal proprio account effettuare il download dell'attestato con i crediti ECM.

A seconda della data di superamento del questionario, i crediti saranno attribuiti all'anno 2014 (corso concluso entro il 31.12.14) o all'anno 2015 (corso concluso dopo il 31.12.14).

Come è composto il questionario?

Il questionario verte sui temi trattati dai singoli dossier pubblicati su *SUMMA Animali da reddito* ed è disponibile soltanto on line.

Si compone di **9 test** in successione, attivati in contemporanea con l'uscita del dossier a cui si riferiscono. L'ultimo test pubblicato sarà pertanto quello riferito al dossier di *SUMMA Animali da reddito n. 10*, dicembre 2014.

Ogni test presenta una serie di domande a risposta quadrupla e scelta singola. Per superare il singolo test è necessario rispondere correttamente almeno all'80% delle domande.

Per informazioni dettagliate sul funzionamento dei test, si rimanda alle modalità operative FAD sul sito www.pviformazione.it.

Il questionario di valutazione dell'apprendimento si considera concluso una volta superati tutti e 9 i singoli test. Per accedere al download dell'attestato ECM sarà sufficiente a questo punto compilare il form di valutazione della qualità percepita.

Quando termina il corso?

La validità del corso abbinato a *SUMMA Animali da reddito* termina in data 14 febbraio 2015. Dopo la scadenza NON sarà più possibile ottenere i relativi crediti ECM.

ALIMENTAZIONE

Carboidrati non strutturali e l'endotossicosi ruminale

Alessandro Fantini

Dairy Production Medicine Specialist, Fantini Professionale Advice srl, Anguillara Sabazia (Roma)

RIASSUNTO

Con l'aumentare della produzione di latte, la gestione del bilancio energetico e proteico negativo nei primi due mesi di lattazione diventa sempre più impegnativa. In più, con il divieto parziale dell'uso di prodotti di origine animale nell'alimentazione della vacca da latte, la totalità dei nutrienti somministrabili sono solo insiemi di cellule vegetali. Gli amidi rappresentano una valida alternativa, in quanto fermentabili nel rumine in acido propionico. Tuttavia, anche gli amidi hanno limitazioni d'uso, in quanto la loro inclusione nella razione delle vacche da latte comporta un'inevitabile riduzione del pH ruminale. È quindi fondamentale conoscere i risvolti negativi sulla salute e sulla fertilità delle bovine derivanti dalla morte ruminale di batteri Gram negativi, notoriamente non in grado di sopravvivere a pH di poco inferiori a 6,0.

Parole chiave: alimentazione, carboidrati, carboidrati non strutturali, pH ruminale, endotossicosi, vacca da latte

SUMMARY

Non-structural carbohydrates and ruminal endotoxemia

With the increase in milk production, the management of energy balance and protein loss in the first two months of lactation becomes increasingly challenging. In addition, following the partial ban on the use of animal products in dairy cows' nutrition, the administrable nutrients are only sets of vegetal cells. Starches represent a valid alternative, as they are fermentable in the rumen in propionic acid. However, starches have limited usage, since their inclusion in the dairy cows' ration leads to an inevitable reduction in rumen pH. It is therefore crucial to be aware of the negative effects on bovine health and fertility coming from ruminal death of Gram-negative bacteria, that are not able to survive at pH slightly below 6.0.

Keywords: nutrition, carbohydrates, non-structural carbohydrates, rumen pH, endotoxemia, dairy cow.

Con l'aumentare della produzione di latte, la gestione del bilancio energetico e proteico negativo nei primi due mesi di lattazione diventa sempre più impegnativa.

Questa situazione metabolica ha un forte impatto negativo sulla fertilità o, meglio, sui tempi di ripristino di una nuova gravidanza, sulla salute del fegato e, secondo le ultime ricerche di epigenetica, sul metabolismo sia del feto sia della futura vacca da latte. La limitata capacità di ingestione della vacca da latte e i pochi alimenti disponibili rendono difficile gestire questa situazione "para-fisiologica". I nutrienti energetici possono essere classificati in carboidrati non strutturali (*Non Structural Carbohydrate*, NSC), che includono gli amidi, gli zuccheri e le pectine, e in grassi. Gli amidi rappresentano una valida alternativa, in quanto fermentabili nel rumine in acido propionico, importante molecola gluconeogenetica, e provenienti dai cereali, il cui valore economico è compatibile con i costi di produzione del latte. Tuttavia, anche gli amidi hanno limitazioni d'uso, in quanto la loro inclusione nella razione delle vacche da latte comporta un'inevitabile riduzione del pH ruminale. Esistono anche limitazioni al loro assorbimento intestinale come glucosio e una potenziale pericolosità quando arrivano in eccessiva quantità nel grosso intestino. Ben si conoscono le conseguenze dell'acidosi ruminale, sia clinica, sub-clinica, a decorso acuto o cronico, e piuttosto conosciuti sono i rischi sanitari dell'acidosi intestinale. Meno noti sono invece i risvolti negativi sulla salute e sulla fertilità delle bovine derivanti dalla morte ruminale di batteri Gram negativi, notoriamente non in grado di sopravvivere a pH di poco inferiori a 6,0⁽¹⁾.

I carboidrati non strutturali

Con il divieto parziale dell'uso di prodotti di origine animale nell'alimentazione del-

la vacca da latte, la totalità dei nutrienti somministrabili sono solo insiemi di cellule vegetali.

I carboidrati sono sostanze organiche formate da carbonio, idrogeno e ossigeno. La parete delle cellule vegetali è costituita da carboidrati strutturali come le emicellulose, le cellulose e la lignina, un tempo indicate col termine generico di "fibra", determinabili analiticamente con la metodica di Wende e identificati nei referti analitici come fibra grezza. Successivamente, Peter Van Soest propose una più accurata classificazione analitica in "fibra neutro deterosa" (*Neutral Detergent Fiber*, NDF), "fibra acido deterosa" (*Acid Detergent Fiber*, ADF) e "lignina acido deterosa" (*Acid Detergent Lignin*, ADL). Con questa nuova classificazione è possibile separare i diversi costituenti della fibra, ossia le emicellulose (NFD-NDF), le cellulose (ADF-ADL) e, infine, la lignina (ADL). Le pectine, intimamente legate alle pareti cellulari, con questo metodo analitico risultano appartenere impropriamente ai carboidrati non strutturali (NSC). La restante quota di carboidrati è contenuta nel citoplasma della cellula vegetale. A questo raggruppamento appartengono gli amidi e gli zuccheri, anche detti carboidrati di riserva. Gli amidi vengono in genere determinati con un sistema polimerico o un sistema enzimatico. Nel sistema CNCPS (*Cornell Net Carbohydrate and Protein System*), i carboidrati vengono classificati ulteriormente in frazioni (A, B1, B2 e C) in base alla velocità di degradazione nel rumine (kd%/h). In questo sistema, carboidrati non strutturali (amido, pectine e β-glucani) rappresentano la frazione B1, mentre gli zuccheri la frazione A. Secondo questo modello, gli amidi hanno un kd pari a 10-40%/h e gli zuccheri a 200-350%/h. Questa variabilità nel kd degli NSC dipende dal tipo di amido o, meglio, dal tipo di cereale che lo contiene, dalle dimensioni ottenute dalla macinazione, ►►



dai trattamenti termici come la fiocatura e, comunque, dal livello di concentrati presenti nella dieta, in quanto ciò condiziona fortemente la velocità di transito della razione nel rumine.

L'amido è formato da due polimeri come l'amilosio e l'amilopectina. Gli alimenti che apportano grandi quantità di amido sono i cereali, come la granella di mais (71% ss), l'orzo (61% ss), il triticale (66% ss), il grano duro (70% ss) e il sorgo (71% ss). Anche nei semi delle leguminose è presente una quota elevata di amido, come nel favino (44% ss) e nel pisello proteico (48% ss). Nell'alimentazione della vacca da latte si utilizzano alcuni sottoprodotti che possano apportare amido, come il farinaccio di grano duro (27-35% ss) e la semola glutinata di mais (18% ss). Nell'ambito dei foraggi, apportano amido anche l'insilato di mais (24-34% ss), gli insilati di cereali autunno-vernini (7-17% ss) e il pastone integrale di mais (48-50% ss).

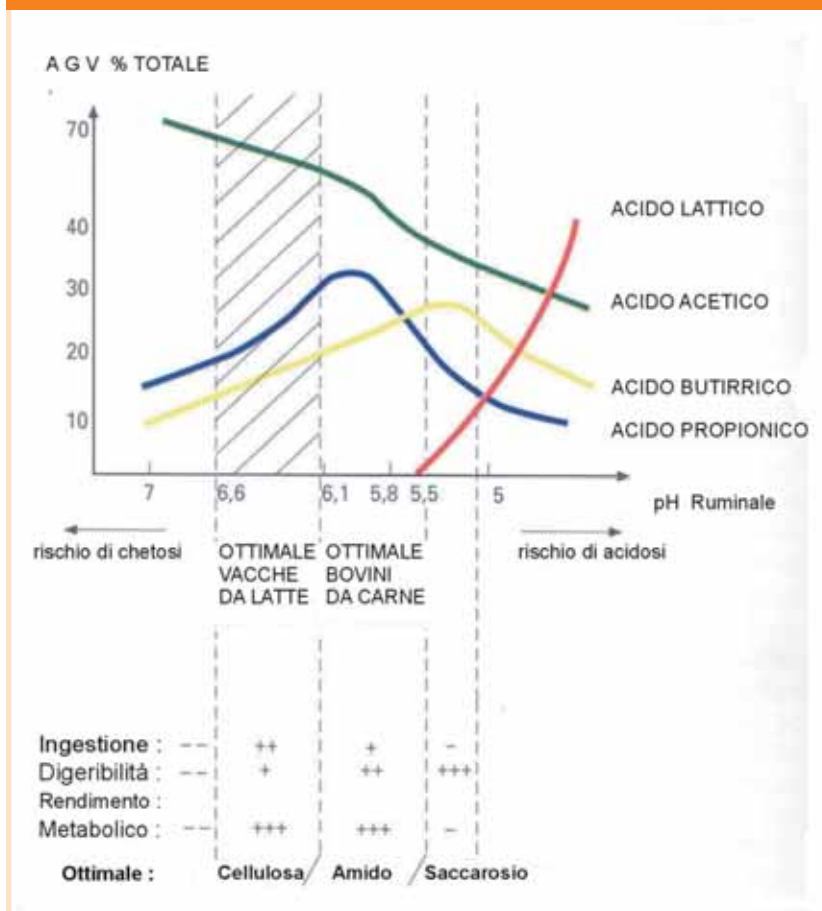
Il tasso di degradazione ruminale (kd) è

influenzato da molte variabili. In ogni caso, esiste una profonda differenza tra il kd del mais e del sorgo macinato e quello dei cereali autunno-vernini, come il grano, l'orzo e il triticale. Questi ultimi hanno un kd molto elevato, mentre quello della farina di mais è molto più lento. Questa sua caratteristica chimico-fisica gli permette, nelle vacche in piena lattazione e, quindi, con razioni ricche di concentrati e a elevato transito ruminale, di arrivare all'intestino tenue per essere assorbito direttamente come glucosio. Questa è la ragione per cui una quota più o meno rilevante di farina di mais deve essere necessariamente inclusa nelle razioni destinate alle vacche in lattazione.

La gestione del bilancio energetico negativo

Nel settimo dossier di questo percorso formativo, dal titolo "L'apporto energetico", si è diffusamente parlato del bilancio energetico negativo e di come la vacca da latte provvede ai suoi elevati fabbisogni di glucosio e, più in generale, di energia. I propionati, derivanti principalmente dalla fermentazione ruminale dell'amido, rappresentano il precursore più importante per la produzione del glucosio nella gluconeogenesi. Il nutrizionista gestisce il bilancio energetico negativo seguendo una procedura ormai piuttosto standardizzata. Propedeutico a qualsiasi intervento è il costante monitoraggio della sua ampiezza, consapevoli del fatto che tale condizione metabolica è inevitabile per la vacca da latte. Per misurarne l'entità esistono valutazioni soggettive del grasso di deposito visibile (BCS) e, in particolare, della sua variazione nei 40 giorni successivi al parto. Inoltre, esistono valutazioni più accurate, sempre individuali, come la percentuale di grasso e proteine nel latte nei primi 2 mesi di lattazione, la determinazione dei NEFA e del BHBA (come metabolita indiretto) e promettenti futuri *bio-markers*, come i singoli acidi grassi presenti nel latte. La produzione di latte al picco e la sua persistenza sono ormai scarsamente correlate con il bilancio energetico negativo. In ogni caso, la *mission* del nutrizionista è fornire alle vacche, nei primi 4-5 mesi di lattazione, una razione alimentare con la più elevata concentrazione possibile di energia e proteina. Ciò si traduce, in pratica, nel cercare di far produrre al rumine la maggiore biomassa microbica e, conseguentemente, la mas-

Figura 1. Concentrazione dell'amido e degradabilità



sima quantità possibile di acidi grassi volatili. Tale obiettivo deve coniugare l'esigenza di avere la produzione al picco più alta possibile e una nuova gravidanza.

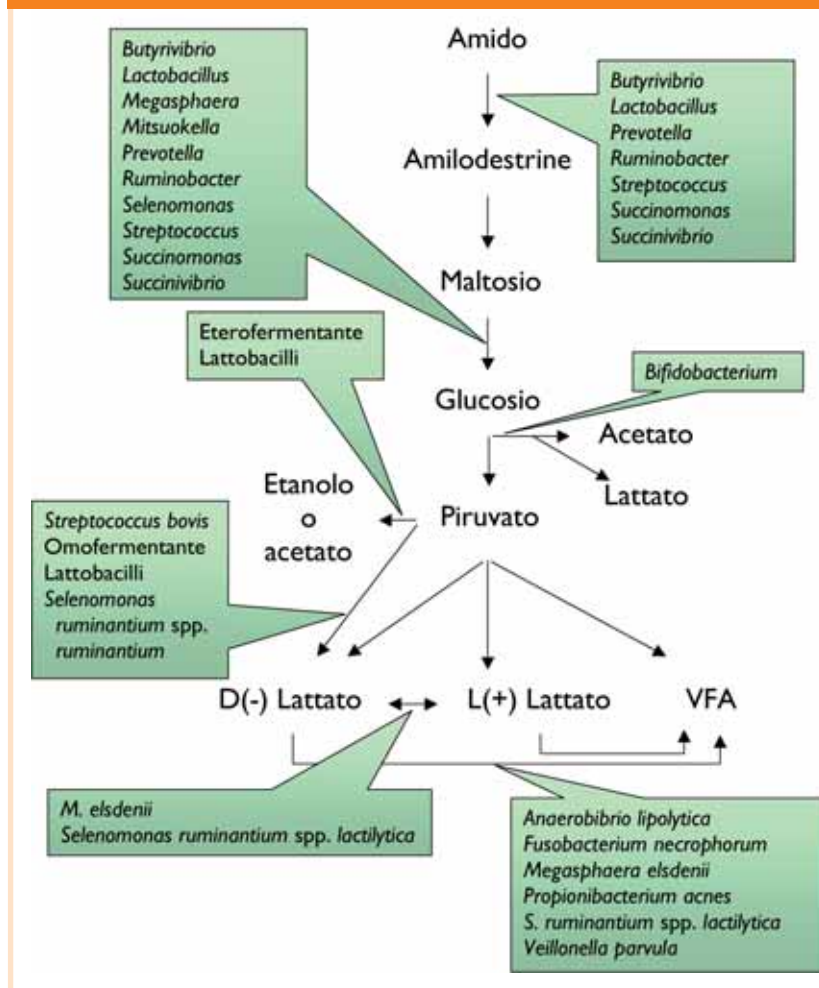
La modulazione delle fermentazioni ruminali

Quando il nutrizionista compila una razione alimentare per le vacche in latte dosa gli opportuni nutrienti per modulare il pH ruminale, cercando di favorire una popolazione batterica piuttosto che un'altra.

I principali acidi grassi volatili (AGV) prodotti nel rumine sono gli acidi acetico, propionico e butirrico, in un rapporto di 75:15:10, ma modificabile fino a 40:40:20. La produzione totale di AGV può essere di 5 mol per ogni kg di sostanza secca ingerita. Una bovina, al picco produttivo, ingerisce abitualmente oltre 25 kg di sostanza secca e, quindi, produce 125 mol al giorno di AGV. Questa enorme quantità di AGV deve essere assorbita attraverso le pareti ruminali per arrivare al fegato e i sistemi tampone della bovina devono essere particolarmente efficienti per mantenere il pH ruminale al di sopra della soglia di sicurezza di 5,8 (figura 1).

All'interno del rumine, vivono una grande quantità di specie batteriche, fungine e protozoarie. I batteri possono essere suddivisi in fibrolitici o cellulolitici e amilolitici (tabella 1) in funzione del tipo di carboidrati che sono in grado di fermentare o meglio idrolizzare. I primi producono come metabolita secondario soprattutto l'acido acetico e i secondi l'acido propionico. Molto diverso è il tasso di crescita di queste due tipologie di batteri. I cellulolitici crescono più lentamente rispetto agli amilolitici e quest'ultimi utilizzano, oltre all'azoto non proteico, anche proteina vera, come aminoacidi e peptidi. I batteri cellulolitici predominanti sono *Fibrobacter succinogenes* (Gram negativo, Gram-), *Ruminococcus flavefaciens* (Gram positivo, Gram+) e *Ruminococcus albus* (Gram+). È considerato secondario, ma non meno importante, *Butyrivibrio fibrisolvens* (Gram+). I batteri ruminali cellulolitici temono i pH ruminali bassi e già con valori inferiori a 6,5 la loro crescita è rallentata; per ulteriori abbassamenti, muoiono proporzionalmente alla riduzione del pH ruminale. I batteri amilolitici, invece, trovano in un pH ruminale compreso tra 6,0 e 5,8 una condizione favorevole. A pH in-

Figura 2. Batteri amilolitici, fermentanti maltosio, glucosio e acido lattico, coinvolti nella fermentazione dell'amido ad acido lattico e AGV



feriori a 5,8 e superiori a 5,5 inizia la crescita rapida di *Streptococcus bovis*, temibile produttore ruminale di acido lattico. Quindi, i principali batteri amilolitici sono *Prevotella ruminicola* (Gram-), *Ruminobacter amylophilus* (Gram+), *Selenomonas ruminantium* (Gram-), *Streptococcus bovis* (Gram+), *Succinomonas amylolytica* (Gram+) e *Succinivibrio dextrinosolvens* (Gram+). Nel rumine, comunque, a pH non inferiori a 5,5, si trova *Selenomonas ruminantium* (Gram-) e *Megasphaera elsdenii* (Gram-), che sono forti consumatori di acido lattico e, quindi, importanti per la salvaguardia ruminale dalle produzioni di acido lattico, soprattutto da parte di *Streptococcus bovis*. Quest'ultimo può crescere anche a pH inferiori a 5,5, dove *Selenomonas* e *Megasphaera* sono in difficoltà (figura 2). Tornando all'attività del nutrizionista e al suo obiettivo di orientare le fermenta-



zioni ruminali verso un'elevata produzione ruminale di propionati, egli crea condizioni sfavorevoli alla replicazione dei batteri cellulolitici e favorevoli ai batteri amilolitici. Questo si traduce, in pratica, nella sostituzione di carboidrati strutturali, ossia NFD, con quelli non strutturali, come gli amidi. Questa sostituzione dà un vantaggio competitivo agli amilolitici che, come si è visto in precedenza, hanno un tasso di crescita ruminale sicuramente più veloce rispetto ai cellulolitici. Questa scelta è rafforzata dal fatto che la riduzione della fibra e più specificatamente quella con una granulometria tale da stimolare la ruminazione (peNDF) provoca un riduzione del flusso salivare e, quindi, una riduzione dell'apporto nel rumine di molecole ad azione tampone, come il bicarbonato e i fosfati. La maggiore concentrazione ruminale di amidi e la riduzione della capacità tampone del rumine creano le condizioni favorevoli alla massima crescita dei batteri amilolitici e, quindi, alla produzione dei propionati. Le condizioni di pH ottimali per questo obiettivo sono un pH ruminale di 6,0-5,8. Un'ulteriore riduzione del pH comporta invece una condizione difficile anche per la crescita degli amilolitici, che viene fortemente ridotta a pH pari a 5,5, dove inizia la produzione di acido lattico e, quindi, l'acidosi ruminale.

Tra gli AGV, l'acido acetico fornisce un substrato importante a livello di mammella per la sintesi del grasso del latte,

ma può essere trasformato in energia e corpi chetonici. L'acido propionico è il substrato ideale per la produzione di glucosio, è il precursore del glicerolo, componente fondamentale dei grassi di deposito (trigliceridi), ed è coinvolto direttamente nella prevenzione della produzione dei corpi chetonici. L'acido butirrico è funzionale alla sintesi dei lipidi e dei corpi chetonici (figura 3).

La vacca nei primi mesi di lattazione va incontro a un deficit energetico più o meno grave. La principale causa di questo è l'enorme impiego di glucosio per la sintesi del lattosio a livello mammario, non perfettamente bilanciabile con il glucosio prodotto dalla gluconeogenesi o da quello assorbibile direttamente dall'amido che arriva indegradato nell'intestino. Pertanto la "manipolazione" delle fermentazioni ruminali per massimizzare la produzione di propionati è la via obbligata, anche se non esclusiva, per gestire il bilancio energetico negativo. I fattori che il nutrizionista deve pertanto prendere in considerazione nell'ambito di una capacità di ingestione limitata e ben definita sono:

- aumento della produzione di propionati ruminali, tenendo attentamente monitorata l'ingestione, sapendo che la concentrazione di propionati nella cellula epatica è il primo fattore condizionante l'ingestione nella vacca da latte;
- le cellule che rivestono le papille ruminali hanno comunque una capacità limitata di assorbimento di questo acido grasso;

TABELLA 1. Uso dei carboidrati nel rumine

Specie	Polisaccaridi	Colorazione di Gram
Cellulosolitici predominanti		
<i>Fibrobacter succinogenes</i>	Cellulosa	Gram-
<i>Ruminococcus flavefaciens</i>	Cellulosa, xilani e pectine	Gram+
<i>Ruminococcus albus</i>	Cellulosa e xilani	Gram+
Cellulosolitici secondari		
<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i>	Cellulosa, xilani, destrine e pectine	Gram+
<i>Clostridium longisporum</i>	Cellulosa	Gram+
<i>Clostridium lochedii</i>	Cellulosa e destrine	Gram+
Non cellulosolitici		
<i>Prevotella ruminicola</i>	Pectine, amidi e destrine	Gram-
<i>Ruminobacter amylophilus</i>	Amidi	Gram-
<i>Selenomonas ruminantium</i>	Amidi e destrine	Gram+
<i>Streptococcus bovis</i>	Amidi	Gram+
<i>Succinomonas amylolytica</i>	Amidi e destrine	Gram+
<i>Succinivibro dextrinosolvens</i>	Destrine e pectine	Gram-

- le condizioni ideali di pH per la massima proliferazione dei batteri amilolitici sono molto vicine a quelle ideali per la produzione di acido lattico da parte principalmente di *Streptococcus bovis* (5,5);
- pH compresi tra 5,8 e 5,5 non solo ostacolano la crescita dei batteri cellulolitici ma ne determinano la morte.

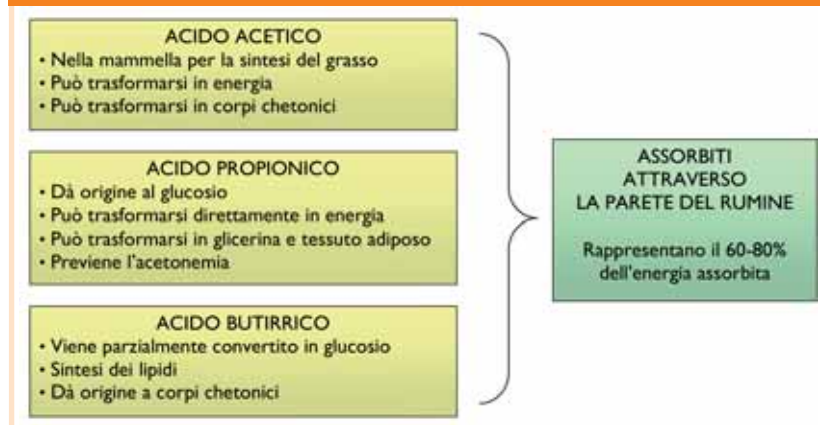
A un pH ruminale vicino alla neutralità (7,0), il rapporto tra i tre principali AGV è di 70:15:8. Queste sono le condizioni del rumine delle manze in accrescimento e delle vacche in asciutta, per le quali la quota di concentrati è molto limitata, a fronte di una notevole presenza di foraggi (rapporto di 80:20). Nella bovina in piena lattazione aumenta la presenza di concentrati a scapito dei foraggi, con un rapporto spesso di 40:60; ciò avviene sostituendo l'NDF da foraggio con gli NSC dei concentrati, in cui la percentuale di amido è rilevante. In queste diete si può arrivare a una concentrazione di amido del 27% sulla sostanza secca, ossia una bovina può arrivare a ingerire oltre 6.000 g al giorno di amido proveniente dai cereali. In queste mutate condizioni ruminali, il pH scende spesso al di sotto di 6,0, con una variazione del rapporto tra gli AGV, che diventa 50:40:20. Si stima che il picco di produzione dell'acido propionico avvenga a pH molto vicino a 5,8. Il nutrizionista deve sempre tenere presente che la condizione patologica di acidosi ruminale sub-clinica si instaura quando il pH ruminale scende a 5,6 per almeno 180 minuti al giorno. Se la quota di concentrati è molto elevata o se la capacità di smaltimento degli AGV non è ottimale o se il potere tampone del rumine è inadeguato il pH ruminale può scendere ulteriormente a 5,5, dove inizia la produzione di rilevanti quantità di acido lattico, che incrementa esponenzialmente con ulteriori riduzioni del pH (eziologia dell'acidosi ruminale clinica).

Le endotossine

La ragione per cui nel classificare le specie batteriche presenti nel rumine, siano esse cellulolitiche o amilolitiche, si è specificato se Gram+ o Gram- è legata alla produzione di endotossine.

Le endotossine sono complessi di lipopolisaccaridi e proteine strutturalmente presenti esclusivamente nella parete cellulare dei batteri Gram-, sia patogeni sia opportunisti. Le endotossine, per la loro natura chimica, vengono anche chiamate lipopolisaccaridi (LPS). La parete di questi bat-

Figura 3. Il destino degli acidi grassi volatili



teri è costituita da una catena lipopolisaccaridica (*O-specific chain*), un core centrale oligosaccaridico e una porzione glicolipidica (lipide A). Quest'ultimo è dotato di un'elevata tossicità, ma la capacità di interagire col sistema immunitario ed è responsabile delle alterazioni attribuite appunto alle endotossine. I Gram- possono liberare quantità anche molto elevate di LPS durante la loro crescita, ma soprattutto durante la loro morte e distruzione.

I LPS possono provenire da tutti quei distretti dell'organismo dove sussistono le condizioni ambientali necessarie per la presenza di Gram- patogeni, potenzialmente patogeni e opportunisti. Tali organi o apparati possono essere tutto il tratto gastro-intestinale e gli apparati uro-genitale e mammario. Quando si creano le condizioni per lo sviluppo massimo di questi batteri o per la loro distruzione, le endotossine possono indurre localmente e nel sangue circolante le alterazioni patologiche note come endotossicosi. Generalmente, i LPS si trovano nel circolo portale e la loro detossificazione avviene a livello epatico, nelle cellule del Kupffer.

Le endotossine batteriche possono agire direttamente modificando l'omeostasi dell'organismo ma, più in generale, esercitando il loro effetto patogeno con la stimolazione della produzione di citochine pro-infiammatorie da parte di alcune cellule del sistema immunitario, come macrofagi e monociti. Le citochine sono il più importante gruppo di molecole biologicamente attive, seconde, in ordine di importanza, solo agli ormoni. Si tratta di molecole di piccole e medie dimensioni, di natura proteica o glicoproteica, con effetti biologici su molti tipi cellulari. Sono importanti nei processi infiammatori, nello



sviluppo e nel mantenimento delle risposte immunitarie e nell'emopoiesi. A oggi, sono state classificate 100 molecole diverse. Quelle maggiormente coinvolte nelle endotossicosi sono le interleuchine o linfocine, denominate così perché prodotte dai macrofagi e dai linfociti-T.

Per meglio comprendere il meccanismo d'azione e la sintomatologia derivante dalle endotossicosi è necessario tenere presente che le citochine stimolano la produzione epatica di proteine della fase acuta. L'interleuchina-6 (IL-6) è la principale responsabile del sintomo febbre, tipico di molte infezioni e infiammazioni. Altra citochina importante, prodotta soprattutto dai macrofagi, è il TNF (*Tumor Necrosis Factor*), fortemente coinvolto nelle manifestazioni cliniche dell'infiammazione sistemica. Attualmente, l'attenzione è rivolta a questa molecola, denominata "fattore di necrosi tumorale" (TNF- α), perché coinvolta nella necrosi dei tumori, anche se può favorire la crescita di altri. In realtà, il TNF- α è coinvolto principalmente nella modulazione del metabolismo intermedio durante un processo infiammatorio acuto o cronico. Si dice che il TNF- α sia una citochina "pleiotropica" per il complesso ruolo che svolge nell'infiammazione e nel metabolismo. Questa citochina è prodotta da macrofagi, monociti, cellule T, cellule della muscolatura liscia, adipociti e fibroblasti. Principalmente viene prodotta dai macrofagi e dai monociti circolanti o presenti nei tessuti, come le cellule del Kupffer del fegato o i macrofagi del tessuto adiposo o del sangue circolante, per stimolazione diretta degli LPS. Quando nel sangue aumenta la concentrazione di LPS, il sistema immunitario cellulo-mediato registra questa "anomalia" aumentando la secrezione di citochine che, da un lato, esercitano un'azione chemiotattica verso gli elementi più specializzati del sistema immunitario (ad esempio, i neutrofili) e, dall'altro, creano le condizioni metaboliche favorevoli alle cellule del sistema immunitario (aumento della disponibilità di nutrienti, come il glucosio e gli acidi grassi necessari alla produzione di energia). In più, queste molecole creano condizioni sfavorevoli ai batteri, come la febbre e la produzione di proteine della fase acuta da parte delle cellule epatiche.

Per creare un assetto metabolico favorevole al sistema immunitario, il TNF- α deve coordinare una serie di azioni sul metabolismo del glucosio e degli acidi grassi. Questa citochina ha recettori (TNF-R1 e TNF-R2) in tutti i tessuti dell'organismo,

esclusi gli eritrociti. Una volta attivati i recettori, viene promossa l'insulino-resistenza e la liberazione degli acidi grassi nel sangue, unitamente a una riduzione della gluconeogenesi e un accumulo di trigliceridi nelle cellule epatiche.

Durante la fase acuta di un'infezione, il TNF- α ha un ruolo importante e decisivo. I problemi nascono quando il processo infiammatorio cronicizza e la produzione di citochine diventa costante, in quanto macrofagi e monociti sono continuamente stimolati. È il caso delle mastiti cliniche o sub-cliniche croniche, del complesso metrite/endometrite clinica o sub-clinica cronica e, più subdola ma più frequente, della produzione continuativa e l'entrata in circolo di LPS provenienti dal ruminante e dall'intestino. La produzione di LPS dal ruminante e dall'intestino si ha in seguito ad acidosi ruminale e intestinale e alle fermentazioni anomale del grosso intestino. Nell'infiammazione cronica, il TNF- α promuove l'IR (Insulino-Resistenza) e, di scarso interesse in buiatria, alcune malattie cardiovascolari, come l'aterosclerosi dell'uomo.

Nella transizione e nelle prime settimane di lattazione il quadro ormonale e metabolico-fisiologico è molto simile agli effetti indotti dal TNF- α . Il primo assetto favorisce la produzione di latte e il secondo la massima disponibilità di nutrienti al sistema immunitario cellulo-mediato. Entrambi con il medesimo meccanismo d'azione, ossia un'azione sul metabolismo del glucosio mediante l'insulino-resistenza indotta nei tessuti più ricchi di recettori, come quello muscolare striato. Un processo infiammatorio cronico, soprattutto se indotto dagli LPS, entra in competizione diretta con la produzione di latte. La competizione tra sistema immunitario e mammella, nella fase iniziale, viene inevitabilmente vinta dalla bovina, poiché la mammella ha priorità sulle altre funzioni fisiologiche e ha una dotazione di recettori per l'insulina sensibilmente inferiore alle cellule del sistema immunitario.

La profonda differenza tra le conseguenze e la diagnostica delle alterazioni del metabolismo del glucosio dovute all'insulino-resistenza e all'insulino-carenza tra l'uomo e la bovina è proprio in virtù della produzione del latte. Nell'uomo a bassa o moderata attività fisica, le due forme di diabete portano a un incremento della glicemia, con i danni da esso derivante. Nella bovina, la maggiore disponibilità di glucosio viene costantemente intercettata dalla mammella per la produzione di lattosio.

L'azione di "risparmio di risorse" per il sistema immunitario operata dal TNF- α si esercita anche nei confronti di eventi fisiologici non prioritari, come la fertilità. Questa citochina agisce sul follicolo stimolando l'apoptosi e inibendo l'effetto delle gonadotropine. Stesso dicasi per l'azione inibente diretta su ipotalamo e ipofisi per la produzione di GnRH e LH.

Quanto detto fin ora non spiega però del tutto il quadro fisio-patologico un tempo definito "la sindrome della vacca grassa". Il tessuto adiposo non è solo un inerte deposito di acidi grassi ma ha una sua complessa interazione con il resto dell'organismo, producendo, ad esempio, ormoni importanti come la leptina. Nell'uomo e nei topi, le cellule del tessuto adiposo, oltre che produrre questa citochina, sono dotate di recettori per il TNF- α . È stata osservata una correlazione positiva e reversibile tra indice di massa corporea e TNF- α . Ciò significa che maggiori sono le riserve lipidiche maggiore sarà la produzione di TNF- α . Da questo si conclude come il link tra obesità e insulino-resistenza è proprio dovuto alla produzione da parte del tessuto adiposo di TNF- α , in quantità proporzionale ad esso. Nella bovina in transizione, il quadro metabolico dell'IR è aggravato dallo stress ossidativo, che in questa fase del ciclo produttivo è più elevato. È quindi evidente che nella gestione del bilancio energetico negativo della bovina in transizione e nelle prime settimane di lattazione, oltre a interventi nutrizionali e manageriali specifici, è necessario controllare i processi infiammatori e, in particolare, la produzione di endotossine. Non avendo oggi la possibilità di impiegare farmaci (generici) in grado di ridurre la produzione delle citochine o di contrastarne direttamente l'effetto, è necessario adottare azioni, nutrienti e farmaci più adatti all'obiettivo.

Le stesse endotossine e citochine sono in grado di condizionare la secrezione ormonale dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene, con un incremento della produzione di ACTH e cortisolo. Questi due ormoni, unitamente alle citochine, sono in grado di inibire la produzione ipotalamica di GnRH e quindi di LH e interferire con la secrezione di CRH, oppioidi e vasopressina. A mediare il quadro clinico dell'endotossicosi intervengono anche le prostaglandine (PG) e, in particolar modo, la PGE₂, che sembrerebbe essere la principale responsabile della stasi ruminale e della febbre. Pertanto, la morte di batteri Gram-, successiva a una loro eccessiva proliferazione, può indurre un quadro clinico ben definito e definibile

con le peculiarità legate all'organo o all'apparato da dove essi provengono.

La presenza nel ruminale di Gram- è molto significativa. È possibile trovare molte specie batteriche responsabili della fermentazione degli alimenti e, quindi, della produzione di acidi grassi volatili e massa microbica. Alcune di queste specie batteriche sono molto importanti come *Bacteroides ruminicola*, *Ruminobacter amylophilus*, *Fibrobacter succinogenes*, *Anaerovibrio lipolytica* e *Succinimonas amylolytica*. A questo gruppo appartengono i noti *Selenomonas ruminantium* e *Megasphaera elsdenii* che si sviluppano in grandi quantità quando il pH ruminale scende nella fascia dell'acidosi ruminale sub-clinica e clinica, ossia quando inizia la produzione ruminale di acido lattico.

L'acidosi ruminale, nella forma sia clinica sia sub-clinica, è caratterizzata da perdita dell'appetito, atonia e stasi ruminale, diarrea, laminiti, disidratazione e da un corollario di sintomi "minori", utili soprattutto nella diagnostica delle forme sub-cliniche. La causa principale di questa grave malattia metabolica è l'ingestione di grandi quantità di carboidrati non strutturali, come gli amidi, molto fermentescibili. Diverse sono le circostanze che possono causare questa condizione: erronea formulazione della razione alimentare, possibilità di scegliere i concentrati in una razione *unifeed*, bruschi cambi di alimentazione (come nel passaggio asciutta-lattazione) o alterazioni del meccanismo di tamponamento ruminale. In questa situazione, dove il pH ruminale può scendere a meno di 6,0, si osserva una rapida e massiccia morte dei batteri cellulolitici, maggiormente Gram-, e dei protozoi, nonché la sostituzione di parte della flora microbica con batteri Gram+. L'acido lattico che si produce in questi casi determina una produzione ruminale di D-lattati, responsabili della produzione di amine biogene, come l'istamina.

Gli effetti clinici prima descritti sembrerebbero essere causati più che dall'acido lattico dalla grande produzione di endotossine liberate dalla distruzione batterica. Nel resto dell'apparato gastrointestinale, sono presenti altri batteri Gram- patogeni, quali *E. coli*, *Salmonella* e *Yersinia*, e opportunisti, come *Enterobacter*, *Klebsiella* e *Shigella*. Anche questi batteri possono, in caso di gravi infezioni, incrementare la produzione di endotossine.

A livello di apparato gastrointestinale, le endotossine inducono direttamente, ma soprattutto attraverso le citochine, una ridotta motilità e leucopenia. Le endotossi-





ne possono anche provenire dalla mammella in corso di mastiti da Gram- (come *E. coli*) e dare il noto quadro clinico generale di ridotta produzione, febbre, stasi ruminale e depressione generale.

In caso di metrite puerperale, grave infiammazione dell'utero che si presenta in genere nel puerperio, a causa di un'imponente presenza di Gram-, come *E. coli*, *F. necrophorus*, *Bacteroides* spp. e *Prevotella*, vengono liberate grandi quantità di endotossine, responsabili del quadro clinico prima descritto. La presenza di metriti puerperali e, successivamente, di endometriti cliniche, a causa proprio dell'endotossicosi che ne deriva, determina una ritardata ripresa dell'attività ovarica dopo il parto e la mancata ovulazione del follicolo dominante, fino alla sua degenerazione cistica. Tale quadro patologico è causato dall'interferenza diretta e indiretta, tramite le citochine, sul rilascio di LH ipofisario. Vista la capacità delle endotossine di stimolare la produzione di prostaglandine e, quindi, di indurre una luteolisi e, comunque, di interferire con la secrezione di progesterone, si può, in caso di grave liberazione di endotossine, arrivare fino all'aborto.

La presenza fisiologica di batteri Gram- nel rumine e in tutto l'apparato gastroenterico, se da un lato ha conferito alla vacca da latte un vantaggio evolutivo innegabile, richiede all'allevatore e al nutrizionista un approccio prudente verso tutte quelle situazioni che possano comportare rapide crescite o rapide distruzioni di batteri, soprattutto Gram-, all'origine di quel quadro clinico riconducibile alle endotossicosi e, spesso, genericamente considerato "intossicazione".

D'altro canto, è necessario riservare la massima attenzione alla gestione, anche farmacologia, di alcune patologie uterine (come il complesso metrite-endometrite clinica) o mammarie (come le mastiti cliniche da enterobatteri). La liberazione di endotossine comporta un innalzamento ematico di citochine e proteine della fase acuta, che possono unfluire anche molto sensibilmente sulla fertilità e le *performances* produttive della vacca da latte.

La produzione di endossine ruminali

Esistono due condizioni che aumentano il rischio di produzione di endotossine ruminali:

- nel tentativo di ridurre l'ampiezza del bilancio energetico e proteico negativo di fine gravidanza e inizio lattazione si è co-

stretti ad aumentare la quota di concentrati energetici e proteici a scapito delle fibre;

- spesso si cerca di supplire alla scarsa qualità dei foraggi con concentrati, al fine di assicurare alla bovina il giusto apporto di nutrienti per la produzione e le altre funzioni metaboliche. Infatti, alcuni autori hanno dimostrato un incremento lineare della produzione di endotossine all'aumentare della percentuale di concentrato della razione.

La riduzione del pH ruminale al di sotto di 6,0 è sperimentalmente realizzabile sia inserendo fonti di amido molto fermentescibile, come l'orzo, sia utilizzando generici concentrati che poco effetto sulla ruminazione, come quelli che contengono una bassissima quota di NDF effettivo (eNDF), in quanto l'NDF contenuto è prevalentemente più corto di 1,2 mm. In un lavoro pubblicato da Ametaj *et al.* nel 2010, si evidenzia come la concentrazione di endotossine nel rumine passa da 0,64 mg/l a 7,90 mg/l con diete rispettivamente prive di orzo e diete che ne contengono il 45%. Gozho *et al.* hanno dimostrato che alcune proteine della fase acuta, come l'aptoglobina (Hp) e la sierio amiloide A (SAA), prodotte dal fegato in seguito alla stimolazione delle endotossine, passano da 0,53 mg/ml (Hp) e 38 µ/ml (SAA) di una dieta costituita solo da foraggi a, rispettivamente, 1,90 mg/ml e 71 µ/ml con diete il cui rapporto foraggi:concentrati è di 40:60. Questo dimostra, inequivocabilmente, che le endotossine prodotte nel rumine in seguito alla morte dei batteri Gram- possono entrare in circolo ed esercitare i loro effetti sull'organismo.

Khfiipour *et al.* hanno condotto un'interessante ricerca del rapporto che esiste tra acidosi ruminale sub-clinica (SARA) ed endotossine. "L'inganno SARA" è legato al fatto che una riduzione del pH ruminale, indotta dalla sostituzione di foraggi con concentrati, dà inizialmente "segnali" positivi. Quando il pH ruminale scende sotto 6,0, si verifica un aumento significativo degli acidi grassi volatili ruminali, con prevalenza dell'acido propionico. In questa condizione, si osserva una maggiore concentrazione ematica di glucosio e lattati a disposizione per la produzione sia di ATP sia di lattosio e, quindi, di latte. È comunque sempre bene ricordare che nella vacca in lattazione la glicemia non è indicativa di un "stato energetico buono", poiché il glucosio è prelevato massicciamente dal sangue dalle cellule dell'epitelio mammario, in quanto sostanzialmente prive di recettori per l'insulina. Quando il pH ruminale si avvicina a 5,6 per al-

meno 180 minuti al giorno, ossia all'acidosi ruminale sub-clinica, la grande disponibilità di AGV causa un miglioramento diretto della produzione di latte e indiretto della sua concentrazione di proteina. Le bovine assumono un aspetto migliore e molte delle attività ovariche legate al metabolismo energetico migliorano. Anche a livello ematico non si hanno sostanziali modificazioni della concentrazione di endotossine e di proteine della fase acuta. Quando si instaura una SARA, la vacca esibisce inizialmente una serie di sintomi di difficile raccolta. Dapprima si osserverà una riduzione dell'ingestione e immediatamente dopo una variazione dell'aspetto delle feci, che diventano più liquide e contenenti materiale indigerito. Tutto questo inizialmente, senza che si osservi una riduzione della concentrazione di grasso del latte e della produzione, ma con un "ingannevole" aumento della proteina del latte. La vacca ad alto potenziale genetico "onora il suo impegno a produrre un latte ad alta concentrazione di grasso" dimagrendo notevolmente, sebbene il dimagrimento, inizialmente, non sia misurabile come perdita quantificabile di BCS, ma solo con la misurazione dei NEFA nel sangue e della percentuale di acidi grassi a lunga catena nel latte. Quando l'acidosi cronizza, inizia un passaggio lento ma costante nel tempo di endotossine nel sangue in grado di modificare profondamente il metabolismo della vacca da latte.

Conclusioni⁽¹⁾

La gestione del bilancio energetico e proteico negativo della vacca da latte a fine gravidanza e piena lattazione è in cima al

la priorità sia del ginecologo sia del nutrizionista clinico. "Sdoganare" la tremenda necessità energetica di questa fase con l'aumento dell'energia della razione, inserendo quindi amidi e grassi, è all'origine dell'alta incidenza di acidosi ruminale ed endotossicosi negli allevamenti delle vacche da latte. La peculiarità fisiologica dei ruminanti e le grandi differenze con i monogastrici consentono di rispondere alle forti richieste energetiche della vacca da latte con alimenti e nutrienti molto diversi da quelli utilizzati dai ruminanti. L'endotossicosi, che probabilmente in passato veniva spesso diagnostica come "vacca intossicata", ha oggi un decorso prettamente sub-clinico. Allo stato attuale delle conoscenze, non esistono parametri ematochimici oggettivi utilizzabili nella clinica di allevamento, così come è impossibile dosare nei laboratori commerciali la concentrazione di lipopolisaccaridi nel rumine. Non rimane altro che evitare tutti quei fattori di rischio che possono aumentare la concentrazione di endotossine nel rumine, come somministrare amido in eccesso, soprattutto se ad alta degradabilità ruminale, garantire un corretto apporto di proteine rumino-degradabili e tamponi, evitare che le vacche possano scegliere nell'*unifeed* i concentrati e utilizzare foraggi con la digeribilità dell'NDF più alta possibile. Nonostante questo, il pH ruminale può stabilizzarsi verso livelli pericolosi; pertanto è necessario un costante monitoraggio della sintomatologia che può esibire la vacca da latte colpita da acidosi ruminale sub-clinica, considerando appunto l'alta correlazione tra endotossicosi e acidosi ruminale sub-clinica. ■

(1) L'introduzione e le "Conclusioni" non sono oggetto di domande del questionario FAD.

Per saperne di più

1-Farney J.K., Mamedova L.K., Godsey B.H., Bradford B.J. Technical note: Validation of an Elisa for measurement of tumor necrosis factor alpha in bovine plasma. *J. Dairy Sci.*, 2011; vol. 94, n. 7: pp. 3504-3509.
 2-Gozho G.N., Krause D.O., Plaizier J.C. Ruminal lipopolysaccharide concentration and inflammatory response during grain-induced subacute ruminal acidosis in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 2007; vol. 90, n. 2: pp. 856-866.
 3-Herman A.P. The effect of rivastigmine on the LPS-induced suppression of GnRH/LH secretion during the follicular phase of the estrous cycle in ewes. *Anim. Reprod. Sci.*, 2013; vol. 138: pp. 203-212.
 4-Iqbal S., Zebeli Q., Mazzolari A., Dunn S.M., Ametaj B.N. Feeding rolled barley grain steeped in lactating acid modulated energy status and innate immunity in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 2010;

vol. 93, n. 11: pp. 5147-5156.
 5-Klasing K.C. Nutritional aspects of leukocytic cytokines. *The J. Nutr.*, 1988; vol. 18, n. 12: pp. 1436-1446.
 6-Li S., Khafipour E., Krause D.O., Kroecker A., Rodriguez-Lecompte J.C., Gozho G.N., Plaizier J.C. Effects of subacute ruminal acidosis challenges on fermentation and endotoxins in the rumen and hindgut. *J. Dairy Sci.*, 2012; vol. 95, n. 1: pp. 294-303.
 7-Lohuis J.A., Verheijden J.H., Burvenich C., van Miert A.S. Pathophysiological effects of endotoxin in ruminants. *Vet. Q.*, 1988; vol. 10, n. 2: pp. 117-125.
 8-Magata F., Horiuchi M., Echizenya R., Miura R., Chiba S., Matsui M., Miyamoto A., Kobayashi Y., Shimizu T. Lipopolysaccharide in ovarian follicular fluid influences the steroid production in large follicles of dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.*,

2014; vol. 144: pp. 6-13.
 9-Vernay M.C., Wellnitz O., Kreipe L., van Dorland H.A., Bruckmaier R.M. Local and systemic response to intramammary lipopolysaccharide challenge during long-term manipulated plasma glucose and insulin concentrations in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 2012; vol. 95, n. 5: pp. 2540-2549.
 10-Whitlock B.K., Daniel J.A., Wilborn R.R., Elsassser T.H., Carroll J.A., Sartin J.L. Comparative aspects of the endotoxin and cytokine-induced endocrine cascade influencing neuroendocrine control of growth and reproduction in farm animals. *Reprod. Dom. Anim.*, 2008; vol. 43, suppl. 2: pp. 317-323.
 11-Zebeli Q., Dunn S.M., Ametaj B.N. Perturbations of plasma metabolites correlated with the rise of rumen endotoxin in dairy cows fed diets rich in easily degradable carbohydrates. *J. Dairy Sci.*, 2011; vol. 94, n. 5: pp. 2374-2382.