

CONSCIOUSNESS CAN LEARN BUT CANNOT DECIDE

*Enrico Bignetti

1. Introduction

1.1

It is generally accepted that, as it evolves, the mind earns great efficiency and speed in return for the extensive lateralization of brain functions such as associative learning and synaptic plasticity. In higher animals, these mechanisms are maximized; in fact, they are considered central to our intelligence, conferring upon us, for instance, the faculty of learning, memorizing, making decisions and choices.

Since the scientific “clue” of semantics in the mind, which is correlated to the faculties mentioned above, is elusive, it is plausible that the nature of the brain domain called “consciousness” (or “global workspace”; Baars, 1988) where these faculties operate, is still a controversial theoretical landscape (Atkinson et al., 2000).

Recently, it was supposed that awareness does not anticipate a so called “voluntary action” but it follows the action as triggered by it, or it emerges from an unconscious process in association with the action (Bignetti, 2001). A slightly different model was more recently proposed by Wegner (2002, 2003). According to this proposals, the causative role of consciousness and the nature of free will in human decisions and actions seem to vanish. Actually, the spontaneous reaction of a human being to this idea might be of disappointment: “Then.. what is consciousness there for?”

Evidently we must go more deeply inside this proposal and rediscuss this model to find, on one side, a convergence between biological and philosophical theories and, on the other, a teleological reason for the illusion of free will which accompanies all of us.

1.2

One of the most intriguing questions regards the necessity of a “supervisor” or “pilot” to act or decide upon coherent behavior in response to multicomponent stimuli, and many metaphors dealing with this aspect of consciousness have thus been proposed. One of the oldest and most famous, “the theater” was considered and described in detail by Baars (1998); briefly, mental actions are like performances in a theater. Although fascinating, this model can be subject to criticism when Baars claims that actions should be coordinated by a unique structure, central with respect to the bilobate brain projections; in this way, the author introduces the analogy of a “stage director”. Basically, an official performance in public is the last of an extenuating series of trials played behind closed doors; thus, when actors or musicians are before an

*Dipartimento di Fisica, Viale delle Scienze 7A, Università degli studi di Parma, 43100 Parma, eMail: bignetti@fis.unipr.it

audience, the stage or the orchestra director has little or almost no influence. Perhaps, this metaphor depicts a situation better fitting classic automatic behavior, conditioning that must be learnt in a stereotyped manner after a series of “trials and errors”. On the contrary, it has nothing to do with a novel conscious experience which, instead, is full of surprises not only for the audience but also for the director.

Actually, it is our opinion that the presence of a “supervisor” in the mind is an interesting problem but one of minor importance as compared with the basic question regarding freedom and intentionality in individual decisions. In other terms, it is by far more urgent to reach an agreement on whether “free will” does or does not exist, a question which the “theater metaphor” does not seem to answer.

This work will first address the “Free will” issue starting from the philosophical consideration that it is a psychological relic of Western cultures and concluding that this paradox of logic, created by the conditioned mind, cannot be compatible with any scientific correlate. Thus a new scenario ought to be supplied with a completely different model of mind. This proposal must extend far beyond the need to find a criterion to distinguish between conscious and unconscious tasks (Posner, 1994) or to drop an old terminology inadequate to define the boundary between implicit and explicit memory actions (Butler & Berry, 2001). Rather, the concept of “intentionality” must be radically criticized.

According to some authors (Dehaene & Naccache, 2001; Schall, 2001) an intentional behavior (or a voluntary action) in humans can be operatively defined as a cognitive task; this task can be subdivided into two main steps: 1) the triggering of a goal in mind, in response to an input; 2) the evaluation, selection and actuation of a strategic pattern to acquire that goal, among all the alternatives and according to their predictable outcomes.

A two-step scheme of the events underlying a voluntary action is conceivable to us. In this context, however, other not so clear statements have been made in order to justify the presence of “free will”. For instance, it was also claimed (Dehaene and Naccache, 2001) that a cognitive system exhibits “free will” if it is able to represent a goal, as well as to estimate the outcomes of its actions “before initiating them” and that a voluntary decision is the result of a “conscious and spontaneous” process.

First of all, we would say that the “representation of an action” is a mental process already accomplished by itself, an action carried out coherently inside, whose conclusions are temporarily memorized before the mechanical output. To this, we would add also that such an ability is typical of many animals not only of humans (for example, let’s remember the intraspecific communication between predators hunting in numbers).

Instead, as far as the definition “conscious and spontaneous” is concerned, we would like to say that, in most cases, the psychologic roots of an intentional action are established deeply inside a vast ocean of individual affects; from this abyss hidden to consciousness, the subject often emerges pointing to what is considered “the Truth, the Important and the Real” for the Self because “the brain transforms the light with which we see into the warm light which we feel” in a self-oriented manner (MacLean, 1970). Thus, there is neither a way to self-realize nor to make anyone else realize the exact motivations leading to an action.

Moreover, the selection of a strategy in the second step mentioned above, implies “individual choice” and this is biased by affective influences. On this basis, we are psychologically distinguished each one of us as individuals because this privateness, unity and informativeness in consciousness is inaccessible to anyone but the individual himself (MacLean, 1970). This issue will be addressed below; nevertheless, we may anticipate our doubts here by asking “who” must choose? Probably by knowing the innermost nature of the subject, we could discover a big sequence of pragmatic inferences, unconsciously chosen by him, which in the end, determine his behavior. In other words, an attempt to reduce the thinking process to a compulsory mechanism catalyzed by the brain might reconcile us with the world of determinism.

Another question regards the “spontaneity” of a voluntary action mentioned above. By saying that a voluntary action is a “spontaneous” process we may ingenerate confusion. In fact, from a psychological point of view, this term implies a sort of “freedom of choice” belonging to the aware subject, which, conversely, means a mysterious force standing behind an action and without any biological correlates. In this case the question of “free will” will indefinitely be postponed. On the contrary, if we adopt a thermodynamic approach, “spontaneity” in a natural process means a very precise transformation of a known system, that occurs upon a perturbation and causes the system to move irreversibly towards a more stable state. Thus, given a system and knowing the nature of the perturbation, an external observer can easily predict the final state and the free energy dissipated during the overall process. This is a deterministic perspective, incompatible with “free will”.

Nevertheless, Dehaene and Naccache still consider “free will” a certain algorithm that applies to the system. On this basis, they conclude that this is the view that might address the old issue of “free will” and determinism, as it was raised by the philosopher Spinoza (1632-1677) who claimed that belief in freedom consists simply in the ignorance of any cause leading to an action. In this regard, the problem had already been raised thousands of years B.C. by the Taoist culture and then inherited by Zen Buddhism (Watts, 1957), a thousand of years before Spinoza. Furthermore, these philosophies discouraged us from searching for the reasons for an action in our thoughts. According to them, in fact, our psychic content is shaded by an intrinsic indetermination: on the one hand, we can retrieve our memories and bring them to a conscious state because they “are” our consciousness but, on the other, these memories derive from a conditioning process which is behind our consciousness.

In an interview, Edelman (Carli, 1997) claimed that, although mind cannot be approached by means of transcendental or metaphysical theories which are scientifically non-addressable, converging interaction between science and philosophy is auspicious. Moreover, he strongly opposed the idea that mind could be reduced to a deterministic mechanism. Since it is connected with human creativity and intentionality, he explicitly refused the analogies between brain and hardware and between mind and software, respectively. One might confidently conclude from Edelman’s words that both intentionality and creativity would be outstanding properties of the human “free will” and shouldn’t correlate with a way of thinking based on strictly causative processes.

Schall shared the same considerations (2001); according to him, our mind is not a physical body, and the attempt to reduce our actions to a more or less complex chain of deterministic events is incomplete. He claimed that “reasons with plans and desires rather than causes” would better depict the purposes driving the human mind to a goal. His conclusion is that, whenever a human being is confronted with alternatives, he can freely choose.

On these bases, we suspect that the question of “free will” will never be resolved!

First of all, plans and desires do not exclude that unconscious reasoning having a causative nature might lie hidden behind a so-called “voluntary” action. In 1970, Paul MacLean had that idea. He believed that the affects accumulated through subjective experiences could not be neutral: they had to condition both our mood and our rationality. Although he was quite alone, he claimed that individual perspectives, behaviors and thoughts (even scientific) were biased by limbic interference; in this regard, he developed a model of the “self-oriented mind” operating through a “soft-brain” (MacLean, 1970).

Since this pioneering work, the idea that objectiveness is constrained by the emotional module, has been embarrassing although fascinating. The picture might actually be even worse if one adds other constraints such as the saturability and paucity of our sensory systems, that distort and limit the perception of the world as a whole.

Thus, as far as the question of “free will” is concerned, we would take another step and try to be theoretically rigorous; to this aim, what physics could teach us should be investigated: a truly free action should conform to the rules of pure chance, so that any “decision” should exhibit the characteristics of moving in any direction, at any time and with no traces of causality or finality. This implies a Markovian-type mind acting without taking into account inner memory conditioning, plans or premeditations of any sort, and thus without knowing any fact preceding or following an action. This kind of blind motion strongly contrasts with the idea of a real mind as we are accustomed to it, and poses again the question concerning the paradox between “free will” and the nature of “time” or the definition of the psychological “now” (Cullerne, 2001).

In the recent literature, there is an attempt to resolve the conflict between “Free Will” and “Determinism”, at least in theory; in practice, the problem is destined to persist since it is generally accepted that “Free Will” domain depends on subject’s personality and will never be proven or disproven by conventional behavioral experiments (Hong, 2003). However, to this regard, a question of logic pertaining to coherence in human actions is raised by Oriental philosophy; if a goal “must” be coherent with the stimulus in a healthy mind, we should conclude that simulation and prediction together must be heavily conditioned by innate and acquired subjective experiences; it follows that our thinking processes stand on general mechanisms evolved on a deterministic, experimentable ground (to look at basic mechanisms of conditioning and memory see: Kandel et al., 1991; Kandel, 2001; Kupfermann, 1991; Schafe et al., 2001). Assuming, for instance, that each living organism has rigid, innate rules of survival to carry out, these intentions are rather evident and stringent;

the hypothetical supervisor in the mind cannot be so free. However, strangely enough, all psychic processes such as perception, judgment, premeditation, simulation and action, are always considered coherent from premises to goals because of the immanent rule of “free will”.

The existence of “free will” is still the most widely accepted idea around the world; thus, the question can be structured this way: provided that intentionality might, in principle, arise from a conditioned mind, is conditioning compatible with “free will”? In the case of an affirmative answer, there is no way to escape from the old dualistic view separating matter from soul! We cannot throw Cartesian spectra out the door and let them reenter through window; this means that the brain still remains “experimentable”, as it has been demonstrated by the current literature (Tononi et al, 1997; Tononi & Edelman, 1998; Crick & Koch, 1998; Taylor et al., 1998; Schall, 2001), except for the basic questions concerning “free will”: “what is it?” and “where is it located?”.

On the contrary, let us assume that the “free will” perspective is intrinsically biased simply because of its mental origin. If we embrace this revolutionary hypothesis, there is the possibility that the “real world” could be split, in our mind, into two representations. This is a sort of “enantiomeric” situation, in which the inside-out perspective is a mirror image of the outside-in perspective but cannot be superposed upon it. Thus, as an external observer would propose, the subject’s point of view becomes separated from the critical objective perspective. This schizophrenic approach cannot be easily supported without a high risk to mental health, and that is why an individual is recommended, by the Eastern religions at first, to undertake an inward voyage, until “Insight” arousal of a very special kind has voided the Ego of any pride or prejudice. This event, well-described by the Oriental Vedic, Buddhist or Taoist traditions, has nothing to do with the thinking process; rather, it is linked to a meditative attitude dissipating mind from any psychological relic or premeditated thought and leaving it quiet and silent (see below).

The present psycho-biologic approach will propose synergy between the oldest philosophies in the world and modern neuroscience. In our opinion, this is perhaps the only safe way to analyze crucial questions in this landscape. In case we all accept the correspondence between philosophic and biologic approach to our consciousness, we get two main goals: a) we finally dissipate any conflict on “Free-will”; b) we help removing any psychological obstacle posed to a Thermodynamic study of the interaction of the mind with its surrounding.

Partially in accordance with the contemporary psychology terms used elsewhere (Baars, 1997; Posner, 1994; Thompson, 1997), we must consider at first that: a) the mind and the functioning brain are interchangeable concepts; b) conscious (or aware) actions are supported by the attention system of the subject and can always be expressed verbally. Furthermore, according to Oriental Philosophy, we will describe the “Personal Identity” (PI), as a virtual entity in our mind which gives us the illusion to be separated from the rest of the world and “free” of elaborating any unconditioned behavior. Then, we tempt to draw a parallel between PI and the “Inner Observer” of an autopoietic system as depicted by Maturana and Varela (1980) (see also: Varela et al., 1991).

In conclusion, we propose that: 1) according to an idea coming from the Eastern philosophy, the overall memory content in a brain conceivably characterizes the underlying personality of a subject; 2) personality strictly determines all individual actions, i.e. any action is a conditioned response integrated by the individual memories; 3) consciousness does not precede, rather, accompanies an action being solicited by the action itself; 4) consciousness cannot “freely” decide in advance what to do but can directly evaluate premises and consequences during the action by means of associative learning; 5) the role of consciousness can be defined “post-adaptive” in the sense that the knowledge of the past facilitate the mind in tuning a better action for the future. In other words, our consciousness was tailored not for decision-making but to play a fundamental role in personality ontogeny.

2. Transcendental meditation in Yoga, Taoism or Buddhism

Here we are quite concerned that the essence of “Meditation” in Yoga, Tao or Buddhism cannot simply be communicated in a few words since it must also be experienced personally (Krishnamurti, 1979a; Klein, 1988; Epstein, 1995; Bodian, 1998; Bignetti, 2001). Although, let us briefly introduce the problem by saying, at first, that Meditation in the three disciplines cited above is much the same: it is a psychological approach. Contrary to the popular belief, it is not “concentrating” mind on something outside! Instead, it is simply “watching” at the thinker inside and “waiting” until conditioned mind empties; then, mind folds in on itself and lets the thinker disappear; the individual watches life flowing as it is, without introducing any judgement, comment or egocentric thought (Watts, 1957, 1975; Krishnamurti, 1979a; Klein, 1988; Epstein, 1995). The interesting fact is that all the mental implications which usually dictate our life, are disclosed to our vivid observation: this can be considered a Meditative Insight. In conclusion the problem of the Ego is central to this approach.

In this paper, it might be valuable to touch upon a few of this topic since an approach to “consciousness” and “free will” which, on the contrary, should exclude a-priori its metaphysic center might not help. The approach proposed here, could perhaps be criticized; however, we explicitly agree with Dennet when he claims that, in talking about a theory of consciousness, one should first account for the “subject of consciousness” (Dennet, 2001).

Descending directly from the ancient roots of Vedanta, Buddhism and Taoism (see, for instance: the “Veda”, “Upanishad” and Bhagavad-Gîta by unknown authors and “Tao-Tê-Ching” by Lao Tzê) a unique message was spread all over the world by many famous teachers and prophets who lived in different epoques and latitudes. This message, said to inspire social and moral teaching, was conserved free from any institutional rule or convention; not surprisingly, its frame was dilated into a true common-life psycho-philosophy (see, for instance: Watts, 1961). Periodically, some fashions like the last “new age”, tried to commercialize it globally but the initial illuminating core still survived incontaminated.

In the Bhagavad-Gîta, for instance, one can find an example of still great

topicality: the principle of “maya”, indicating that man is always confused by a psychological curtain in his own mind. “Maya” was described a thousand years B.C., and clearly anticipated MacLean’s intuition (1970), at least in philosophical terms. For instance, biodiversity is undoubtedly the fragmentation of the living universe into a huge amount of physically separated entities, all of which, nevertheless, belong to a unique Reality. Yet this unicity cannot be seen by humans, since inherent constraints such as spatio-temporal coordinates and causative thinking impede a synchronic view of things and events as an “aesthetic continuum”. This is the typical aftermath of the archetypal dualism in mind having roots in “Maya”, which separates the “observer” from the “object observed”.

Moreover, according to a well-known paradox, we usually consider our past actions and third-person actions both as events deterministically dictated by the cause-effect rule; on the contrary, as far as the present regards us, we would take a gamble on “free will”. Again, this seems quite in accordance with “Maya”; likewise, “free will” is an illusory product of mind, created merely only to self-attribute the dominant position in nature’s hierarchy.

That is why, at the very beginning of Meditation, in a comfortable environment and without competition, crucial questions such as: “who am I?, who is posing such a crucial question, what is intentionality?” etc., initially resonate inside; until a Meditative Insight is finally achieved: the oppressive presence of the Ego and its conditioned nature are totally disclosed (Krishnamurti, 1982; Krishnamurti and Bohm, 1985; Klein, 1988). At this stage, it becomes objectively clear to what extent this Ego may impede the subject to reconcile with the unique Reality.

In conclusion, it would seem that the individual mind is the result of a material process conditioned by its own product, the Ego. Not only! Depending on fragile and limited sensory organs and being fragmented and spun across many cognitive levels by the emotional system, the mind does not feel reasonably confident of its position; frightened by this uncertainty, it is conceivable that this mind tends to identify with a single decisional level and accept only protective strategies. Although it is a mind trick hidden to itself, a representative of the Ego is then unconsciously adopted and identified with. Obviously, once this Darwinian-like process has been selected and finally incorporated in the human brain, the individual mind either can no longer remember that crucial “bifurcation” in its evolution nor can it even be objective. From then on, it refuses any mechanistic idea of itself, clearly sponsoring “free will” as a sort of popular ideology.

Most probably, in humans, this sort of psychological bias can trigger all other mental dualisms such as: man and God, body and soul etc., giving origin to all kind of conflicts. In this respect, a new interpretative key of Adam’s apple and guilt might be discovered.

If the old traditions of Vedanta and Taoism are true, what should they really change in our life? Should they drive us to despair? Should we stop acting? Not at all! They suggest that we spend our life in the attempt to possess this Truth and make it operative in our life. If one understands and accepts it, he will liberate his action from psychological conditioning and dissipate conflicts. The Meditative Insight is self-instructive (Klein, 1988; Krishnamurti, 1979a,b; Krishnamurti & Bohm, 1985):

it depicts a revolutionary view of the world, it unmasks any egocentric perspective of life, the concept of “choice” is clarified in the light of conditioning and, since our mental categories are drastically changed, our behavior is also significantly influenced.

For example, let us make few considerations on the concept of “choice”. In opposition to what is claimed by Schall (2001) in favour of freedom of choice, Meditation clarifies this question: in analyzing it by means of the concept of “Maya”, it can be concluded that it is an illusion. First of all, it should be noted that one facing such a situation, “has” to choose; one is a-fortiori obliged to conform his behavior to a changed situation; moreover, the limited repertoire of alternatives is offered by the overall context, not only by the subject. Finally, among the few possibilities, the subject “must” adopt only the action best fitting the criterion of the most adaptive (by the way, whether this conditioning occurs in full awareness or not, does not matter).

In conclusion, a voluntary decision does not really look to us like a free action; although, it is still lived as a true choice by the subject. But, most probably, this is a mechanism that enables the maintainance of an optimistic approach to life stresses (discussing autopoiesis, below, we will see that this stress has a fruitful didactic meaning). In fact, these considerations neither disorient the subject nor throw him into apathy. On the contrary, the interrelationship between the subject and his surroundings becomes suddenly clear. Therefore, Meditation is not simply a contemplative state in which any form of dualism or contraposition typical of human consciousness spontaneously abandons the subject; surprisingly, the subject begins to keep “seriously” an ironic and fully detached mood from any material or intellectual position (cultural or psychological) (Bignetti, 2001, pp. 205-224).

3. According to Oriental Meditation, individual memories behave like a reference for the thinking process: the “Personal Identity” (PI) model

3.1 “Thinking” and the “will to think” are synonymous

If one really wants to understand, concretely, the meaning of “Complexity” applied to the system “brain-mind”, he should experience what Meditation proposes in this regard. Remarkably, our mind is referred to us by the Hindi tradition like a monkey jumping everywhere, never quiet, always anxious, never centered on the present but rather jumping back and forth from the past to the future.

As a matter of fact, it is evident how tiny the energy generated by transducing an input at the periphery of the nervous system, for instance in a taste bud of the tongue is compared to the signals that, instead, autopropagate, resonate, amplify, oscillate, evoke etc. within brain areas in response to it. Thus, we think that this metaphor is illuminating: the process of thinking really appears as a slave of compulsory behavior, that is the “will to think”, which seems to be the intrinsic organo-typic function of the brain.

3.2 The “will to possess” emanates from the thinking process

To an external observer (as already stated, the subject can be an external

observer of his own past actions), the subject moves to and from an egocentric attractor, the “I”, especially when seizing novelties that might expand personality and fame (this term is quite similar to the one proposed by Dennet, 2001). The tendency to such a goal is under the control of the emotional module. In psychological terms, this mental process could be described as the expression of the “will to possess” (well-being, knowledge, poverty, richness, power, sex etc. - note that virtues or vices might be equally represented). In all living organisms, “possession” or “desire to acquire” manifests as natural forces to survive or to adapt better to the environment; humans, in particular, can manifest it by means of a wide range of psychological nuances.

Once the world has been changed by the subject through appropriate output, the original environmental stimulus disappears, and the desire specifically aroused by it vanishes. Thus, the feedback circuit between the inner and outer worlds in that context is shut down. In other words, when a goal is reached and desire is satisfied, the individual seems to be quiet, as if an equilibrium between the individual and his/her surroundings were reached (how awareness will contribute to the loop will be discussed below).

3.3 Birth of a virtual subject in brain: “PI”

The natural correlate to “the will to possess” might reside both in the explosive driving force, the “will to think”, described above, and the computational capacity and structural plasticity of synapses shown by our nervous system (Hebb, 1949, and, as a review: Kandel, 1991; Fuster, 1997; Koch, 1999). Collectively, these are unconscious properties that move neurons without pleasure. But, since compulsions and rewards are central to the psychology of “the will to possess” (Krishnamurti, 1979b; Epstein, 1995), then, is it possible that pleasure, in particular, might arise at a more complex computational level, for instance within neuronal networks of different brain areas? Is it possible that in order to facilitate mind interaction more properly with the surroundings, a virtual entity with the aim of mind-organizer might be lodged in our mind?

In this respect, in our daily life, we assume so many different roles, types of behavior and responsibilities (in a bank, at home, at church etc.) that our personality appears as faceted as a portrait in a cubist painting. Each perspective represents a well-confined workspace, a sort of semantic domain of individual memories with which we are identified, where a specific aspect of our “Personal Identity” (PI) must be resumed to act properly in a given context. In this regard, “the sense of real, true and important” is universal but, since the world of affects is private, “what is real, true and important” to anyone is absolutely individual (MacLean, 1970). Since “the brain transforms the light with which we see into the warm light which we feel” in a self-oriented manner, biodiversity manifests in a wide range of opinions and preferences (MacLean, 1970).

We always behave as if a PI were there, in our mind: when we speak to ourselves or try to explain our actions, we say: “I.”; we identify with this virtual entity. However, believing in its presence does not mean that it really exists nor does it mean that a biological entity correlating to PI is needed in order to manipulate individual memories, to react to an input and formulate coherent thoughts.

Rather, let us assume that PI is only a pool of memories that confer specific behavior on the individual on the basis of conserved, physiologically predictable mechanisms. In this case, PI is neither an elusive pilot nor a soul in mind: it is much more like an operative system installed in our brain in order to memorize and resume a self-adapting personality in each individual, within his genetic potential. According to Buddhist psychology, “healthy narcissism” is considered “self-generated”, and the identification with a narcissistic Self is “endemic in the human condition” (Epstein, 1995, p.69).

Everybody believes he has a PI or an “I” or an Ego. However, it should be understood that this is simply a “virtual entity” which moves within the brain to “organize” the mind. The most important function of this virtual entity is to link the search for pleasure with human behavior.

3.4 World fragmentation in mind

The idea that the world is fragmented into well-defined entities and humans are separated into individuals grows very early in a human being, most probably during intrauterine life. At this stage, in fact, some physico-chemical input can be perceived but it can neither be reproduced nor mimicked by the subject. An outgrowing personality becomes even more evident in infants, when a physical distance between an object and the fingers or the mouth is experienced; the infant can grasp things but the contrary does not hold: the subject cannot compel the objects to move or to grasp him at will. This second goal will never be achieved by a conscious subject, not even by concentrating his mind with a huge expense of psychic energy.

As stated above, the learning process is compulsory and stereotyped; PI plasticity is under the control of a classic reward circuitry, with features similar to “operant conditioning” (Kandel, 1991): if this associative loop is successful, the old PI is reinforced or otherwise is updated.

This crucial experience causes several first-person inferences; at first, the feeling that reality is totally fragmented converges with the conviction (not only emotional but also intellectual) that one is a biologically confined individual, separated but interacting with the environment. Then, very soon, the growing subject learns how difficult it is to communicate an intimate feeling outwardly (MacLean, 1970). And this in turn gives rise to profound psychological effects, the most evident being the insurgence of a PI with psychological borders. A similar concept is also constitutive of a basic Zen Buddhist theorem regarding personality. According to it, an individual “tenses up” around that which he is usually denying or cannot fully apprehend; thus in the end, the personality is constructed upon a more or less strong basis of self-estrangement (Epstein, 1995).

Nevertheless, the adults around him try to teach him appropriate behavior and language in order to deal with daily experiences efficiently; on the other hand, a young subject tends to acquire these instruments since imitation is quite an efficient vehicle of instructions (Rizzolatti and Arbib, 1999). Between conspecifics with similar traditions and customs, information and communication regarding protocols or strategies to solve different tasks dealing with daily-life situations, is even more efficient since it bypasses some brain constraints. Thus, this kind of knowledge, will

be handed down from generation to generation or will evolutively be adapted to life changes, according to the needs. On the contrary, the existential questions regarding the Self can neither be self-explained easily, due to the paradox mentioned above (MacLean, 1970), nor they can be discussed with each other. Thus, for example, the existential questions dealing with the origin, nature and destiny of an individual will invariably remain and will forever continue to disturb mankind.

4. PI might resume a biological significance if we consider the model of Autopoiesis

4.1 Autopoiesis

As mentioned above, the unconscious “will to think” arises before the frenetic desires of the mind; although necessary, the “will to think” is not sufficient to predispose an individual to the “will to acquire” (to acquire matter and knowledge, technical or cultural) that follows. Then, how does this occur? Is there any reason which might predict the process orientation and energy involved?

Assuming the brain is a system (see above) with the inherited disposition to communicate and interact with the outside, we might then predict that several forces are impinging on a growing PI from the rapidly changing environment. Firstly, a novelty can perturb the homeostasis between mind and its surroundings; secondly, any exposure of PI to gain self-respect and personal success in life becomes a strong associative reinforcement of the hedonistic circuitry; these reasons prime PI to conquer new targets.

In our opinion, this kind of mechanism has much to do with “Autopoiesis”. This term was coined in biology by several independent authors to redefine the relationship between the subject and its environment (Maturana and Varela, 1980; Szentágothai, 1993; Varela et al., 1991; Stewart, 1995-2000). The presence of an “I” seems there to justify an organism’s strategy for survival and differentiation and to explain some cognitive properties of higher individuals. The term “autopoiesis”, infact, refers to a strategic mechanism by which an organism as a whole can survive and differentiate in its environment. To do so, the organism “enacts” the world where it lives and creates a self-adapting interaction with it or with a well-confined part of it.

According to the original message of Maturana and Varela (1980), an autopoietic organism with a central nervous system should exhibit cognitive functions by generating an “inner observer”, i.e. a metastable linguistic and descriptive domain; this observer is functional to the complex organism provided it persecutes the self-organizing purposes required by an autopoietic system. This concept seems to us reasonably adequate to embody our PI.

They claim that an autopoietic system although anatomically closed cannot be functionally distinguished from its niche or the surroundings to define which function or process is inside and which is outside, since, to be autopoietic, a system lives within an homeostatic equilibrium with the context. Thus, terms like “inputs” and “outputs” should be usually avoided and substituted with “deformations”,

“interactions” etc.; this principle holds unless we are in the presence of an observer, either inner or external; in this situation, the arrow of time is drawn and the “history” of an autopoietic system can be described by the eyes and the tools of an observer, just like it could be done by an old behaviorist or a biologist in a defined spatio-temporal frame. At the end, these authors came to conclude that, despite what minds think about the world fragmentation, there is no actual separation between the subject and the surrounding object since they undergo a codependent origination.

Moreover, in Stewart’s constructivism (Stewart, 1995), a viable organism that successfully displays a life-strategy of this sort, is cognitive by definition: organisms feel themselves distinct but unseparable from their ecological niche. On his own admission, Stewart implies a metaphysics that is positively non-objectivist.

4.2 The belief in “free will” is an autopoietic mechanism of PI

First of all we must say that, in the light of Autopoiesis as well as of Meditation, any form of dualism appears as an erroneous perspective of the human mind which separates the observer from the object. Since PI can intimately communicate with itself and only indirectly with its own body or with the surrounding world, it feels like a separated soul; moreover, not knowing exactly what to expect from the outside, PI fears his surroundings! This archetypical dualism generates an escalation of troubles and is the source of fears of all kinds: loneliness, illness, death etc. When the emotional module intervenes, a high barricade around the Self is immediately erected, and interaction with the outside is prospectively seen only within egoistic finalities.

If input perception and output computation in mind are both biased, spontaneity is truly natural but of a quite different nature than “free will”. Therefore, it is conceivable that the mind deceives itself in believing it possesses such freedom. But why? Perhaps, when we say that the mind can autonomously assume full responsibility for all its decisions, we are self-confident that, alone, we can organize our life better, give our actions more consistency and efficacy and do not need to wait for orders from any uncertain source outside. To this aim, the whole network of interrelationships between the subject and the surroundings is fragmented into an oversimplified landscape of smaller subsystems, each one being more easily manageable by an appropriate platoon of PIs correlated to them.

According to this proposal, it is clear that any logical conclusion is affected by prior world knowledge. This is easily acceptable even by “official” science (Oaksford, 2001); however, to this we have added that PI is committed to protect and expand the “Self” in a stereotyped manner. In disagreement with the picture that our mind is not a physical body subjected to external forces (Schall 2001), it really seems that “reasons” do coincide with “causes” (in a biochemical-biophysical view, causes correlate to “electrochemical gradients” that produce work and diffusive processes). In such a landscape, it follows that the term “Voluntary action” becomes ambiguous and it must be explained why so much effort to maintain attention should be consumed by an aware individual.

5. The two-level PI model

5.1 The model

From the discussions above, we conclude that our PI is installed in our mind in order to observe an autopoietic dictat: getting the goal of self-organization. In the overall picture, “Free Will” does not exist: it is only a belief of the inner observer. However, provided the inner observer survives, this illusion is justified since it is like an energy gear for such a cognitive system: it makes PI imagination working harder and better, i.e. it is the basic requirement for the reward circuitry operating at best; if not, the system would disintegrate according to the theory of Maturana and Varela (1980).

To understand the answer posed above, a two-level mind model can finally be proposed in Figure 1. Inspired to the previous work (Bignetti, 2001), this model would try to define the role of consciousness in human cognition more precisely than done elsewhere (Wegner, 2002, 2003). It is based on a revolutionary hypothesis of the mind that erases “free will” but leaves fundamental cognitive functions to consciousness. As one can notice, PI can be splitted into two domains, PImemories and PIawareness, respectively, playing two different catalytic roles.

The basic idea is that triggering of psychic activity is input-locked (input can be either an external or a psychic stimulus); this step initially involves memory retrieval (“memory out”) from the specific mnestic networks (PImemories). This PI domain is stimulated by the input according to semantic affinities or repulsions; that is also why we act coherently. The aim of the PImemories-catalysed reaction is to lead to an output which modifies the world in a homeostatic direction: if the modification is succesfull then the world input ceases. Typically, a single-turnover reaction can be carried out with success by an individual when engaged in a well-known, mechanical action.

In alternative, when the interaction between the world and the individual is totally new, Reaction 1 output is ineffective, the feed-back process is usually delayed by a “trial and error” protocol; thus, the input keeps recurring. This situation inevitably switches the individual awareness on by activating a specific PI module (PIawareness) which, in turn, can catalyse a two-step reaction, respectively, a “learning” step with the observation and the comprehension of what is occurring in Reaction 1 (including its inefficacy), and a “memory in” process which catalyses plastic changes in the fine network architecture of the PImemories module, when the best solution has been given.

5.2 Implications

The model has several implications, a few very basic and others practical. First of all, awareness is only a concurrent reaction of an unconsciously-preceeding action, the subject believes decides freely but does not so. In fact, consciousness cannot decide for present actions nevertheless it can acquire, from recent experience, a useful knowledge for the future, provided the situation will be the same.

In this regard, a great instructive opportunity is offered to the subject by so-called “choice”. According to our model, we cannot choose our actions but we can

at least evaluate our efficacy and the goals obtained in the end (in fact, premises and goals are judged by the aware subject). If the results do not fit the expectations, we add some information to the primitive input, and the preconceived strategies can be further fragmented and recombined to generate new solutions, until the original will is completely satisfied and erased. It is a “trial and error” game where PI contents are either confirmed by the present experience or modified and adapted for the future by means of associative learning (to this respect, we should mention that there are quite interesting examples and several proposals of cooperative systems emerging from complex systems and able to link associative processes to specific and efficient actions; Haken, 1983; Freeman W.J., 1999).

At second, the model shares many aspects with other Darwinian systems: inherited features, casual mutations, and learning-and-memory induced plasticity are tools that, taken together, enable adaptive processes in intelligent systems without any external, intervening entity. PI ontogeny and adaptivity can take advantage of the reward circuitry as described elsewhere (Kandel et al., 1991). The sense of pleasure is a “constitutive” expression of the PI which, in turn, has been selected and evolved a-posteriori on genetic grounds!

Going back to Figure 1, we can analyze the overall process in a causative perspective; it seems that the action, coming first, must be a necessary (even though not sufficient) cause of awareness but not vice-versa. Any action (either muscular or exclusively psychic; automatic or voluntary) is catalyzed in a deterministic (probabilistic) way according to the inherited and acquired components of the inner observer; thus the reactivity to the same stimulus is so wide-ranged that cannot be easily predicted by an external observer.

5.3 Conclusions

In conclusion, awareness cannot precede any action but can occur only during or later than the action itself. The reasons for that are essentially two: 1) any action can account for a specific “memory out” intervention which unconsciously elaborates a path in response to a stimulus, coherent with the intimate nature of the subject; 2) awareness intervenes only to consolidate or renew the idea of what is useful and pleasant to the subject by remodelling his PImemories (a paper describing this model from a thermodynamic point of view is under construction).

The hypothesis summarized in Figure 1 confers upon awareness a “post-adaptive” value which remains even more fundamental for cognition and action especially in the absence of any trace of “Free Will”. Most probably, the illusion of “Free Will” of the Ego is joint to the necessity of assuming first-person responsibilities in the life, a preliminary step along with classical hedonistic circuitry. In other words, we may say in accordance with some authors, that consciousness assumes in neural dynamics the role of a “causally efficacious participant in the cycles of operation constituting the agent’s life” (Thompson and Varela 2001). To this aim, PIawareness, a virtual although significant subject in the hedonistic circuitry, could be addressed by means of “inner speech” (see below).

6. Awareness and “inner speech”

Whenever we receive an input and “decide” on an appropriate behavior, we must think. While the interaction between us and a stimulus might initially be casual, if the relationship which is established becomes finalistic, deep compulsory thinking is occurring within the subject. Generally speaking, the expectations from a “voluntary” action are great, and a creative thought is believed to occur; in order to think creatively, the subject always utilizes a known language to speak to others or to himself, alone; this silent dialogue carried on inside, is called “inner speech” (Baars, 1997,1998) or “introspective speech” (Dehaene and Naccache, 2001). This property is so exclusive to intentional behavior that it is used as a criterion to assess conscious processing among mental states (Gazzaniga et al., 1977; Weiskrantz, 1997).

Several models of complex human thinking in the mind are described in the literature so that the mechanism of such elaboration seems to be epistemologically penetrable today (Oaksford, 2001), e.g. the recent hypothesis focusing research on syllogistic reasoning. According to it, our mind first attempts to construct an integrative semantic representation of premises and conclusions and finally makes a decision, provided the model in the mind with its relative deductions, is believable. In our view, this deduction comes only a-posteriori; although we agree with the fact that when inner speech is activated, awareness is there: “inner speech” still remains a potent tool to focus the individual attention on the actual problem, evoking creativity and mental insights; thus, all the different PIs might be potentially involved in solving the question. Moreover, the consequences of the individual output can be consciously analysed and evaluated in terms of efficacy, and new conclusions can be inferred and memorised.

Our natural language might be acquired in childhood by imitating words and phrases heard, many times, within our family or in the environment; by the way, the imitation process seems to be a very general brain strategy (Miklosi, 2001; Rizzolatti and Arbib, 2001) that enables individuals to learn correct behavior from others more quickly and easily. The overall language system does not stand alone but interacts with perception as well as memory, consciousness and speech (Sakai et al., 2001).

In conclusion, it is widely accepted that any form of language, spoken or gestural is not possible outside of consciousness. Conversely, mental growth seems to depend on the presence of “inner speech”, at least up to a limit which is inherent in the egocentric nature of the consciousness (Bignetti, 2001).

7. Conclusions

Jean Klein, a famous teacher of Advaita-Vedanta (Klein, 1988; Bodian, 1998; Bignetti, 2001), used to reply to anyone who asked how to change his life: “the film of your life has already been written!”. His commentary on the statement was clear: only a part of our story is projected onto the big screen of our consciousness: that part with which our Ego explicitly identifies. He concluded that life is worth living if one understands it; in fact, one might make a real change only by looking back at

the source of the light and not at the shadows on the screen. This complete detour seems to follow the free choice of the subject; however, this is not the case, since it is initially catalyzed by the presence of a good teacher; and then, becomes a question of deep comprehension and not decision (by the way, we cannot choose “the good teacher”; rather, it is he who chooses us when we are ready) (Bignetti, 2001).

This message is not in contrast with the idea that any apparently-voluntary action first requires the intervention of deep attention (Posner, 1994) which in turn might evoke awareness within the subject. According to Oriental philosophy, however, this attention belongs to “ordinary consciousness”: it originates at the egocentric linchpin of the “Wheel of Life” (representing the metaphor of our personality, i.e. the “Human Realm”, around which our mental states or “Self” rotate) (Humphreys, 1975; Epstein, 1995, p. 21), and points outwards, straight to the source of stimulation. This type of attention can be deeply understood by the “bare” attention and related awareness evoked in Meditation (Watts, 1961; Krishnamurti 1979a; Krishnamurti, 1982; Klein, 1988; Bodian, 1998, Ch. 5; Bignetti, 2001); in other words, “bare” attention is that power of awareness that leads one to know himself as “nothing but” the feelings associated with “emptiness” (Epstein, 1995, p.126) i.e. with the ordinary attention of the Self (Bignetti, 2001).

After preliminary interaction between the stimulus and the brain in the ordinary attention, several kinds of “Self” are called into play by Parvizi and Damasio (2001) to achieve a final action. Actually, we don’t see much difference between all these different layers of “Self” and our PI fluctuating from unconscious to conscious states, back and forth, without reaching ever the “bare” attention of the Meditative nature; infact, we wonder whether the “proto-Self” (the reference Self described by these authors) alone is enough to represent our PI in all respects (action and observation). In our case, a comparison carried out by PI between its memory content and the representation of a stimulus might be all that is required to prime a psychic reaction, provided the observed difference might be enough to go beyond an awareness threshold defined by a complex interplay of PI desires and expectations.

In conclusion, the phenomenon of consciousness is difficult to comprehend also because scientific and philosophic perspectives often intertwine and conflict with regard to basic questions. Two basic questions lie at the interface of this cultural debate: a) How can brain physiological patterns become the subjective experience we refer to as imagination, representation, qualia, words or thoughts? (see: Edelman & Tononi, 2000, and references therein); b) Can we really manage our actions in the sense that they can be defined as intentional or voluntary? (Schall, 2001; see also: Dehaenne and Naccache, 2001, and references therein). In this paper, we have attempted essentially to approach the latter aspect and concluded that there are no voluntary actions: “free will” is a psychological illusion. Awareness is that domain where PI does not decide any action but is necessary to represent the ongoing action inwardly, for two main finalities: 1) To further implement knowledge about the thermodynamic states in play and achieve a conclusive result; 2) to associate this result with a reward and prime the storage of new useful information for the future: this hedonistic mechanism might be defined as “post-adaptive”. One can discover it only by means of a Meditative Insight, when listening and looking intimately inside;

otherwise it is not so easy, just because his “Personal Identity” hardly renounces to the idea of a spiritual, autonomous Self (Bignetti, 2001). A general consensus to the physicalist theories of the mind (Jack & Shallice, 2000; Atkinson et al., 2000) might come from Oriental but not from Occidental philosophies; the faith in “free will” is a dogma that represents a metaphysical “impasse” impossible to be scientifically explained. Maybe this is the reason why Occidental epistemology in the neurosciences remains complex: perhaps “we are still in the grip of a residual dualism” (Searle, 1998).

The Cartesian dualism and the faith in “free will” hidden in the back-stage of the mind, might obstacle any clear relationship between philosophy and science but gather a religious consensus in the West (Bignetti, 2001). As an example, we can mention Libet (1999) who presented some experimental evidences that might be in line with the model here proposed, although he concluded differently. He showed that brain potentials (“readiness potentials”) related to the psychic elaboration of a “freely voluntary” action comes prior than the awareness of the intention to act. Nevertheless, he did not accept a model of the mind lacking “free will”; therefore, to circumvent the problem, he suggested that “free will” can maintain the control the mechanical act, for instance, by posing his veto (again, we should comment this reminding that, in our model, the action of “posing a veto” should be considered a further thought, a distinct action). Anyhow, Libet refuses to take into consideration a principle that might provide the physiological basis for the doctrine of the “original sin” (Freeman A., 1999). Obviously, this model cannot be in accordance with some western ideology, e.g. the Christian according to which this way of thinking might induce humans to feel relieved from their responsibilities; such an idea might negatively extend also to human behavior, from ethics to the legal sphere as well (Freeman A., 1999). Instead, Oriental view, suggests that “free will” gives people the psychological opportunity and, sometime, the arrogance to interpret the world according to their needs, in a selfish manner. In other worlds, the archetypic responsibility cannot be “choosing” or “deciding” but “understanding” the role of “free will” in our psyche; Maharaj explicitly says that the idea of being the author of our own actions is a “Slavery” because there is nobody separated from the rest of the world: “there is only life; nobody is living!” (Maharaj, 1973).

Finally, as far as awareness regards, an individual should not be considered aware unless we prove that his mind has activated the “inner speech”, in accordance with Baars (1998). In our model, awareness communicates and learns so that the individual can self-adapt for a better future or for an homeostatic purpose (see: Maturana and Varela, 1972). While we are doing something, we cannot be aware of it but we can subjectively experience an action by interrupting it and placing ourselves in a meditative mood. The same occurs with the “inner speech” echo that somehow evokes an interior perception which probably corresponds to that of: “being conscious of being conscious” as others have described (Edelman & Tononi, 2000).

Parole chiave: Coscienza; Libero arbitrio; Filosofia orientale; Autopoiesi; Comportamento condizionato; Apprendimento e memoria; confabulazione silenziosa

Keywords: Awareness; Free will; Oriental philosophy; Autopoiesis; Conditioned behavior; Learn and memory; Inner speech.

Abstract

Do we have “Free Will”? In this work we will conclude: “No, we don’t”! So, if we realize that, what will then occur to our standard believes, to our daily life? Ancient Oriental philosophies suggest that: “free will” is an illusion and the mind is conditioned to satisfy a hedonistic “ego”; this should be deeply understood through “Meditation” to enjoy this kind of life as it is. A recent Western cognitive model based on “Autopoiesis” and compatible with this philosophic view can be proposed: a) neurons are committed to thinking; b) “personal identity” (including individual memories) exhibits the “will to possess”, an autopoietic function grasping any novelty in a Self-oriented perspective; c) known inputs find quick responses, while new inputs cause a trial-and-error rearrangement of memory contents to elaborate a satisfying solution; d) a-priori, awareness cannot decide an action but can describe and judge its efficacy by means of the “inner speech”, thus favouring a-posteriori the updating of the individual knowledge. This model eliminates any philosophic conflict regarding a Cartesian dualism and embodies many features of the autopoietic systems with a “post-adaptive” role.

Riassunto

Possediamo il “Libero Arbitrio”? In questo lavoro arriveremo a concludere di: “No”! Ma se scopriamo che ciò è vero che cosa dunque accadrà alle nostre certezze, alla nostra vita quotidiana? Le antiche filosofie orientali suggeriscono che il “Libero Arbitrio” è un’illusione e che la mente è condizionata a soddisfare il proprio Ego edonistico; questo messaggio dovrebbe essere compreso con la “Meditazione” se si vuole godere a pieno della vita così com’è. A tale proposito, è possibile proporre un modello “cognitivo” di stampo occidentale ma compatibile con quella visione filosofica orientale, che si basa sulla “Autopoiesi”: a) I neuroni sono “dedicati” al pensiero; b) l’ “Identità Personale” (che include tutte le memorie individuali) manifesta una netta “Volontà di possesso”, una funzione autopoietica che si aggrappa ad ogni novità esterna interpretandola secondo una prospettiva egocentrica; c) inputs noti trovano risposte immediate, mentre inputs ignoti causano risposte con un meccanismo di “trials and errors”, un riarrangiamento dei contenuti mnestici esistenti fino all’ottenimento della risposta ottimale; d) la coscienza non può decidere a-priori nessuna azione ma può descrivere e valutare l’efficacia della risposta condizionata, anche attraverso un “Inner speech” (confabulazione silenziosa), e questo favorisce l’aggiornamento a-posteriori della conoscenza individuale. Questo modello cognitivo elimina ogni conflitto filosofico basato sul dualismo cartesiano ed incarna molti aspetti dei sistemi autopoietici grazie all’assunzione di un meccanismo di apprendimento e memoria “Post-adattativo”.

Acknowledgements

We wish to thank: Jean Klein and Sri Nisargadatta Maharaj for Advaita Vedanta and Yoga teachings; Professor Arnaldo Vecchi and Gaetano Aiello for critical reviewing of the manuscript and Nancy Birch for the assistance.

References

- Atkinson, A. P., Thomas, M. S.C. & Cleeremans, A.: (2000) Consciousness: mapping the theoretical landscape, *TICS* 4: 372-382.
- Baars, B. J.: (1988), *A cognitive theory of consciousness*. Guilford Press, New York.
- Baars, B. J.: (1997) Psychology in a world of sentient, Self-knowing beings: a modest utopian fantasy. In: Solso R.L. (Ed), *Mind and brain sciences in the 21st century*, (pp.3-17), MIT Press, Cambridge, MA.
- Baars, B. J.: (1998) Metaphors of consciousness and attention in the brain, *TINS* 21: 58-62.
- Bignetti, E.: (2001), *Dissacrazione della coscienza*. Il Valico Edizioni, Firenze.
- Bodian, S.: (1998), *Meditation for dummies*. IDG Books Worldwide, Foster City, CA.
- Butler, L.T. & Berry, D.C.: (2001) Implicit memory: intention and awareness revisited, *TICS* 5:192-197.
- Carli, E. (1997). *Cervelli che parlano*. Bruno Mondadori Ed. Milano.
- Crick, F.H. & Koch, C.: (1998) Consciousness and neuroscience, *Cerebral Cortex* 8: 97-107.
- Cullerme, J.P.: (2001) Free will and the resolution of time travel paradoxes, *Contemporary Physics* 42: 243-245.
- Dehaene, S. & Naccache, L.: (2001) Towards a cognitive neuroscience of consciousness: basic evidence and a workspace framework, *Cognition* 79: 1-37.
- Dennet, D.: (2001) Are we explaining consciousness yet? *Cognition* 79: 221-237.
- Edelman, G.M. & Tononi, G.: (2000), *A universe of consciousness. How matter becomes imagination*. Basic Books, New York.
- Epstein, M.: (1995), *Thoughts without a thinker*. Basic Books, New York.
- Freeman, A.: (1999) Decisive action: personal responsibility all the way down, *J. Consciousness Studies* 6: 275-278.
- Freeman, W.J.: (1999) Consciousness, intentionality and causality, *J. Consciousness studies* 6: 143-172.
- Fuster, J.M.: (1997) Network memory, *TINS* 20: 451-459.
- Gazzaniga, M.S., LeDoux, J.E. & Wilson, D.H.: (1977) Language, praxis, and the right hemisphere: clue to some mechanisms of consciousness. *Neurology* 27: 1144-1147.
- Haken, H.: (1983), Synopsis and introduction. In: E. Basar, H. Flohr, H. Haken, A. J. Mandell (Eds.) *Synergetics of the brain* (pp.3-25). Springer-Verlag, Berlin.
- Hebb, D.O.: (1949), *Organization of behaviour*. Wiley, New York.

- Hong, F.T.: (2003) Towards physical dynamic tolerance: an approach to resolve the conflict between free will and physical determinism, *BioSystems* 68: 85-105.
- Humphreys, C.: (1975), *A popular dictionary of Buddhism*. Curzon Press, London.
- Jack, A.I. & Shallice, T.: (2001) Introspective physicalism as an approach to the science of consciousness, *Cognition* 79: 161-196.
- Kandel, E.R.: (1991), Cellular mechanisms of learning and the biological basis of individuality. In: E. R. Kandel, J. H. Schwartz, T. M. Jessel (Eds.), *Principles of neural science* (pp. 1009-1031), 3rd Edit.. Prentice-Hall Intl., Englewood Cliffs, NJ.
- Kandel, E.R.: (2001) The molecular biology of memory storage: a dialogue between genes and synapses, *Science* 294: 1030-1038.
- Klein, J.: (1988), *Who I am*. Element Books Limited, Longmead.
- Koch, C.: (1999), *Biophysics of computation*. Oxford University Press, New York.
- Krishnamurti, J.: (1979a), *Meditations*. Shambala Pub., Boston.
- Krishnamurti, J.: (1979b), *Exploration into insight*. Victor Gollancz, London.
- Krishnamurti, J.: (1982), *The network of thought*. Krishnamurti Foundation Trust LTD, London.
- Krishnamurti, J. & Bohm, D.: (1985), *The ending of time*. Victor Gollancz, London.
- Kupfermann, I.: (1991), Learning and memory. In: E. R. Kandel, J. H. Schwartz, T. M. Jessel (Eds.), *Principles of neural science*. (pp. 997-1008) 3rd Edit. Prentice-Hall Intl., Englewood Cliffs, NJ..
- Libet, B.: (1999) Do we have free will? *J. Consciousness Studies* 6: 47-57.
- Maharaj SriN.: (1973) *I am that*. Chetana Bombay.
- MacLean, P.D.: (1970), The triune brain, emotion and scientific bias. In: F. O. Schmitt (Ed.) *The Neurosciences, 2nd Study Program*, (pp. 336-361). The Rockefeller University Press., New York.
- Maturana, H.R. & Varela, F.J.: (1972) *De maquinas y seres vivos*. Editorial universitaria.
- Maturana, H.R. & Varela, F.J.: (1980), *Autopoiesis and cognition: the realization of the living*. Reidel Pub.co., Dordrecht.
- Miklosi, A.: (2001) From grasping to speech: imitation might provide a missing link, *TINS* 22: 151-152.
- Oaksford, M.: (2001) Reasoning and world knowledge, *TICS* 5:186.
- Parvizi, J. & Damasio, A.: (2001) Consciousness and the brainstem, *Cognition* 79: 135-159.
- Posner, M. I.: (1994) Attention: the mechanisms of consciousness, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91: 7398-7403.
- Rizzolatti, G. & Arbib, M. A.: (2001) From grasping to speech: imitation might provide a missing link, *TINS* 22: 152.
- Sakai, K. L., Hashimoto, R. & Homae, F.: (2001) Sentence processing in the cerebral cortex, *Neurosci. Res.* 39:1-10.
- Schall, J. D.: (2001) Neural basis of deciding, choosing and acting, *Nature Rev. Neurosci.* 2: 33-42.
- Searle, J. R.: (1998) How to study consciousness scientifically, *Brain Res. Rev.* 26: 379-387.
- Stewart, J.: (1995) The implication for understanding high-level cognition of a

grounding in elementary adaptive systems, *Robotics and autonomous systems* 16:107-116.

Stewart, J.: (2000) From autopoiesis to semantic closure, *Ann. NY Acad. Sci.* 901: 155-162.

Szentàgothai, J.: (1993) Self-organization: the basic principles of neural functions, *Theor. Med.* 14: 101-116.

Thompson, R. F.: (1997), Will the mind become the brain in the 21st century? In: R. L. Solso (Ed.), *Mind and brain sciences in the 21st century.* (pp. 39-50). The MIT Press, Cambridge, MA.

Thomson, E. & Varela, F. J.: (2001) Radical embodiment: neural dynamics and consciousness, *TICS* 5: 418-425.

Tononi, G. & Edelman, G. M.: (1998) Consciousness and complexity, *Science* 282: 1846-1851.

Tononi, G., McIntosh, R., Russell, D.P. & Edelman, G. M.: (1997) Functional clustering; identifying strongly interactive brain regions in neuroimaging data, *Neuroimage* 7: 133-149.

Varela, F.J., Thompson, E. & Rosch, E.: (1991), *The embodied mind.* The MIT Press, Cambridge, London.

Watts, A. W.: (1957), *The way of Zen.* Pantheon Books, New York.

Watts, A. W.: (1961), *Psychotherapy East and West.* Pantheon books, Random house, New York.

Watts, A. W.: (1975), *Tao: the watercourse way.* Pantheon Books, New York.

Weiskrantz, L.: (1997), *Consciousness lost and found: a neuropsychological exploration.* Oxford University Press, New York.

Wegner, D. M.: (2002), *The illusion of conscious will.* MIT Press.

Wegner, M. D.: (2003) The mind's best trick: how we experience conscious will, *TICS* 7: 65-69.

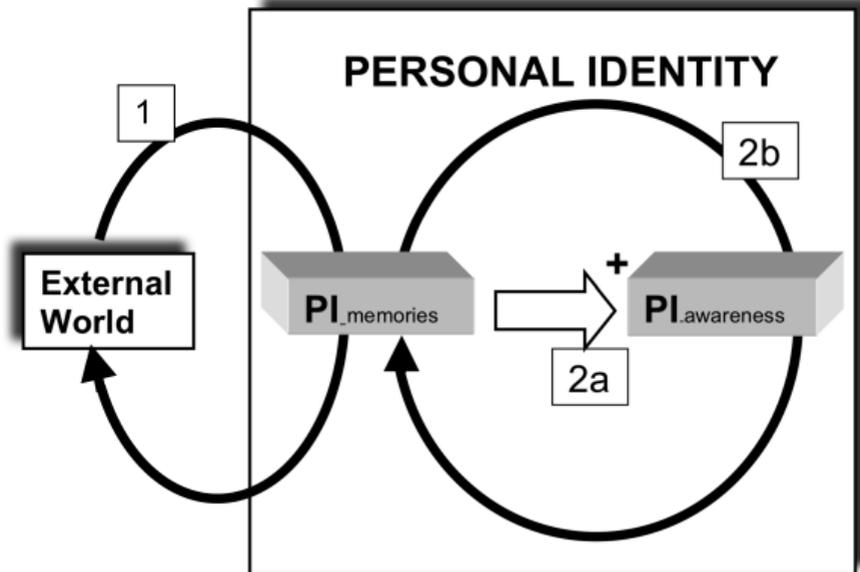


Figure 1

Simplified scheme of reactions occurring in a two-level mind model. “Personal Identity” characterizing the Self, is subdivided into two domains: PI-memories, the pool of individual’s memories, and, respectively, PI-awareness, the metastable domain with higher cognitive functions, which “catalyses” PI-memories updating. Reaction 1: brain-catalyzed reaction between a stimulus either from the outer or the inner world and those subject’s memories which are involved in the action; these memories have been selected and retrieved, on the basis of semantic affinity or repulsion of the input. The feed-back reaction exhibits homeostatic finalities: it ends with an action, a muscular movement (skeletal or lingual) ought to modify the World and switch the stimulus off. This action follows mechanistic rules, is unconscious and probabilistic. Reaction 2a: in case Reaction 1 is ineffective, PI-memories stimulation reiterates for as long as the brain is given the chance to become aware (allosteric activation of a metastable PI-awareness). Reaction 2b: PI-awareness is intelligent enough to rapidly evaluate the initial inefficacy of Reaction 1 and finally catalyse a “memory in” of the correct protocol reaching the final target. In conclusion, awareness does not precede but comes along with the individual actions thus playing a fundamental “post-adaptive” role, in accordance with associative learning and behavior.

THE ROLE OF NUTRITION IN THE HEALTH OF CANINE EARS

Fausto Quintavalla, Ezio Bianchi, Marco Sperotto, Stefano Guazzetti⁽¹⁾

SUMMARY

The aim of this study is to evaluate the influence of nutrition on the ear of the dog. Twenty-nine dogs were included in the study, divided in two groups. One group was fed with a dry feed made of fish and added with pineapple and ginseng. Starting at the beginning and every 15 days in the course of the study, all dogs were subjected to clinical and laboratory evaluations. The overall duration of the study was 60 days. The results of the study confirm that diet may influence the colour and quantity of cerumen in ear canal. Furthermore, statistics show that the specific diet object of this study can reduce ear inflammation.

RIASSUNTO

L'alimentazione influenza lo stato di salute dell'individuo. Scopo del lavoro è di valutare l'azione di un mangime secco del commercio a base di pesce, ananas e ginseng sullo stato di salute dell'orecchio del cane. Sono stati inclusi in questo studio n. 29 cani suddivisi in due gruppi, uno dei quali ha ricevuto l'alimento in oggetto. Tutti i cani sono stati sottoposti a valutazioni cliniche e di laboratorio prima e durante il periodo di sperimentazione con cadenza quindicinale. La durata dello studio è stata di 60 giorni. I risultati confermano che la dieta può influenzare il colore e la quantità di cerume presente nel canale auricolare. Inoltre, i dati statistici evidenziano che l'alimento può contribuire al controllo della flogosi auricolare.

INTRODUCTION

Canine external ear consists of the pinna, that differs from breed to breed, and the external ear canal that ends with the tympanic membrane. The skin covering the external canal is not different from the rest of the skin surface. Several glands can be found (sebaceous and modified ceruminous apocrine glands) that produce cerumen. Cerumen is a mixture of desquamated chertinocytes and hair so rich in fat that Taishin et al. reported that the fat percentage in the cerumen might be used in female cattle as an indicator of the fat percentage in milk (as it does not depend on the milking machine or technique, nor on the nipple's health).¹ A chromatographic

Animal Health Department, Unit of Internal Medicine- University of Parma
(1)= ASL of Reggio Emilia

test on lipids in canine cerumen showed its composition: 100% cholesterol, 93.8% cholesterol esters, 93.8% free fatty acids, 93.8% fatty acids aldehydes, 93.8% wax, 68.8% triglycerids, 56.3% lecithin, 18.8% sphingomyelin².

In canine ear several pathogens can be found, that may become virulent and therefore cause a pathologic state when environment conditions are favourable. An example is given by *Malassezia pachydermatis* that represents a reservoir for the infection of other skin parts and may very easily be a secondary problem during allergic dermatitis, keratinization defects, endocrin pathologies, staphylococcus infections or other primary dermatoses³. In canine auditory canal *Malassezia* is attached to cornified epithelium's cells through lipids⁴.

In vitro observations showed that adding fatty acids to the culture medium does not affect *M. pachydermatis* colonies' growth, but oleic and linoleic acid do have mycostatic effects.⁵

This study aims at evaluating the role of a fish based nutrition, added with pineapple and ginseng, on canine ears.

METHODS AND MATERIALS

Animals. 30 female and male dogs of different ages and breeds were included in this study (Table 1), all apparently healthy; they have been living at Parma's dogs home for at least 6 months and have been fed dry food. All dogs had pendent ears.

The dogs tested, all lodged in single boxes and correctly vaccinated, were divided into two groups: group A was fed with dry food, composed of fish and fish products, pineapple stalk and ginseng dry extract; group B was fed with former food and acted as a control group. (Table 2).

Group A changed to the new food gradually, during 4 days.

The dogs involved in this study were fed once a day with a food quantity corresponding to their weight. Water was at their disposal *ad libitum*. No antibiotics or antiinflammatory substances were given during the study.

Test. Before beginning the test (T0) all animals were accurately visited, with laboratory and instrumental tests. All dogs underwent a blood test (blood taken from the forearm's cepalic vein) and a videotoscopic evaluation (Video Path™, Welch Allyn® - Skaneateles Falls, NY; USA), followed by an ear tampon (Dry Swab, Euro. Me.D. srl – Surbo, LE).

The blood sample was put in test-tubes containing CaEDTA and rapidly handed in at the Animal Health Department, Unit of Internal Medicine, of the University of Parma. Each blood sample passed a hemocrome test performed with Medonic camera CA 570 to count blood cells (Delcon, Milan).

Instrumental auditory canal evaluation showed that all dogs had integral tympanic membranes. While evaluating the ears, the operator paid special attention to possible inflammations of the pinna and the canal, crusts, hyperkeratosis, cerumen/exudates (quantity), tissue proliferations, evaluating the subjects tested in a corresponding clinical chart according to the scale shown (Table 3). Each ear

canal was photographed in its horizontal section and identified through a progressive number.

The ear tampon was performed to take a sample of the material present in the horizontal duct of each ear and analysed with a cytologic and microscope examination. The material obtained was smeared on a slide, dried in the air and coloured with May Grünwald Giemsa staining.

The slides were observed with an oil-immersion objective (1000x) in order to evaluate the possible presence of coccus or rod bacteria, yeasts, inflammatory cells, erythrocytes and cheratinocytes. Each cellular component was evaluated in quantity over 10 fields and the average number in each field was calculated. A part of the sample was also tested directly under the microscope (100x) to estimate the possible presence of ear parasites.

All dogs were weighed and underwent blood analysis every 15 days for 4 times; also otoscopic tests and ear tampons were performed at the same time. Each ear was photographed at the end of the experimental test.

Statistic analysis. The clinical score's trend was analysed with random effects models⁶ (to avoid the codependancy of ear/dog/time observations) subject to the following transformation [$\log(\text{score}+1)=\text{logscore}$].

RESULTS

Group A was composed of 8 male and 7 female dogs, with an average age of 7.2 years; group B was composed of 9 male and 6 female dogs, with an average age of 7.9 years.

Dog number 9, of group A, was excluded from the experimentation as of the 30th day, because it did not have the research parameters due to the presence of a skin lesion which led to the use of chemioantibiotics.

In the following average scores are shown, according the days, type of food and examined clinical parameters.

Pinnal inflammation

	<i>day</i>	<i>food</i>	<i>average score</i>
1	0	GROUP A	0.12500000
2	15	GROUP A	0.05000000
3	30	GROUP A	0.00000000
4	45	GROUP A	0.00000000
5	60	GROUP A	0.03571429
6	0	GROUP B	0.30000000
7	15	GROUP B	0.20000000
8	30	GROUP B	0.15000000
9	45	GROUP B	0.00000000
10	60	GROUP B	0.00000000

Crusts

	<i>day</i>	<i>food</i>	<i>average score</i>
1	0	GROUP A	0.03571429
2	15	GROUP A	0.03333333
3	30	GROUP A	0.00000000
4	45	GROUP A	0.00000000
5	60	GROUP A	0.00000000
6	0	GROUP B	0.10000000
7	15	GROUP B	0.11666667
8	30	GROUP B	0.00000000
9	45	GROUP B	0.00000000
10	60	GROUP B	0.00000000

Otalgia

	<i>day</i>	<i>food</i>	<i>average score</i>
1	0	GROUP A	0.6428571
2	15	GROUP A	0.5000000
3	30	GROUP A	0.2321429
4	45	GROUP A	0.1785714
5	60	GROUP A	0.2142857
6	0	GROUP B	0.6166667
7	15	GROUP B	0.4833333
8	30	GROUP B	0.3666667
9	45	GROUP B	0.5333333
10	60	GROUP B	0.4833333

External canal inflammation

	<i>day</i>	<i>food</i>	<i>average score</i>
1	0	GROUP A	1.1428571
2	15	GROUP A	0.7500000
3	30	GROUP A	0.7857143
4	45	GROUP A	0.4464286
5	60	GROUP A	0.5714286
6	0	GROUP B	1.0666667
7	15	GROUP B	1.1000000
8	30	GROUP B	0.9166667
9	45	GROUP B	0.8166667
10	60	GROUP B	0.8833333

Exudates

	<i>day</i>	<i>food</i>	<i>average score</i>
1	0	GROUP A	1.464286
2	15	GROUP A	1.216667
3	30	GROUP A	1.250000
4	45	GROUP A	1.142857
5	60	GROUP A	1.285714
6	0	GROUP B	1.550000
7	15	GROUP B	1.550000
8	30	GROUP B	1.416667
9	45	GROUP B	1.516667
10	60	GROUP B	1.600000

Phlogosis global score

	<i>day</i>	<i>food</i>	<i>average score</i>
1	0	GROUP A	3.183333
2	15	GROUP A	2.550000
3	30	GROUP A	2.116667
4	45	GROUP A	1.650000
5	60	GROUP A	1.966667
6	0	GROUP B	3.633333
7	15	GROUP B	3.450000
8	30	GROUP B	2.850000
9	45	GROUP B	2.866667
10	60	GROUP B	2.966667

In order to have more statistic date, an inflammation global score was created by adding the individual phlogosis scores (pinnal inflammation, crusts, otalgia, external canal inflammation, exudates) in a clinical global score.

The analysis of this variable's trend was performed with random effects models⁶ (to avoid the codependancy of ear/dog/time observations) subject to the following transformation [$\log(\text{score}+1)=\text{logscore}$].

This analysis (Table 4) shows that, considering the correlation among measures repeated on the same dog and the same ear at different times, the difference in clinical score is significant when the p level is slightly superior to the nominal level (0.05).

A graphic presentation of the global and individual scores is shown in graphic 1-3. Figure 1 shows some significant examples of cerumen and auditory canal inflammation reduction.

No relevant difference has been observed in the ematochemical parameters tested together with clinical parameters: blood parameters have always remained in a physiological range during the whole test.

A microscope and cytological cerumen analysis showed no difference between the two groups and no variation in time.

DISCUSSION AND FINAL CONCLUSIONS

External otitis represent an important part of a veterinarian's clinical activity, both for their incidence (ranging from 5 and 20% of the dogs) and the difficulties in the therapy and in handling the patients⁷.

The most common problem that may cause otitis are allergic pathologies and particularly food intolerance⁸. In certain cases, recurring otitis might be the only clinical sign of an allergic pathology.⁹ External otitis, associated with itching and compatible with a food allergy, responds quickly when patients are fed with hypoallergenic food, particularly if essential fatty acids are correctly added.¹⁰

Every time an inflammatory stimulus appears, cerumen production grows; it does not seem to have antibacterial effects in patients with recurring otitis as opposed to healthy patients.¹¹ No relation between the cerumen's colour and microorganisms isolated from the external auditory canal seems to exist¹². It is certain, though, that average fats contained in the cerumen of dogs with ear diseases are significantly lower than in healthy dogs² (average: 24.4%, range 4.3-69.9%). Nonetheless, although *M. pachydermatis* prefers the auditory canal of dogs with a cerumen high in fats, its growth depends on the canine breed¹³.

We share Watson's opinion that diet has a main influence on skin and coat health and plays an important role in etiology and therapy of certain skin diseases.¹⁴ External otitis with cerumen, for example, is often associated with zinc deficit¹⁵. In particular, certain types of food play an important role in allergic pathologies and world bibliography becomes fuller and fuller of information on that subject, and especially on the protective function of certain elements, such as fats, vitamins and minerals. For example, in industrialized countries asthma is increasing and at the same time a reduction of fish consumption (rich in polyunsaturated fatty acids omega-3) and an increased use of seed oil (rich in fatty acids omega-6) can be observed¹⁶. Eicosanoids deriving from membrane cells' metabolism together with arachidonic acid (a fatty acid omega-6) are strong mediators of phlogosis and itch¹⁷. In these cases, variations in membrane's fat composition, due to diet changes in the consumption of fats, may be involved in the inflammatory reaction. A diet balanced in fats and micronutrients seems to be the right condition to maintain an ideal health of canine skin and ears.

Dogs fed with food A showed a relevant reduction of clinical score, which was confirmed by a statistic analysis ($p=0.0578$). This might prove the antiinflammatory effect of the nutritional elements of food A.

Fish, main component of diet A, represents an excellent source of food, rich in Vitamin B₁₂, phosphorus, selenium, and PUFA omega-3. Essential fatty acids are crucial for cell membranes and to maintain the skin's structure and function and act as precursors for eicosanoids, like leucotriens and prostaglandins.

Linoleic acid (omega-6), contained in many types of seeds oil, as a precursor of arachidonic acid, enhances E-prostaglandins' synthesis, while EPA contained in fat fish oil (pilchard, mackerel, tuna, salmon), and partly DHA too, inhibits it. The enhanced synthesis of PGE₂ seems to aid IgE production and enhance allergic tendencies in metabolism.¹⁸

Other than fats, vitamin C, E and selenium have drawn the attention of researchers studying the antioxidants' capacity of affecting some allergic pathologies¹⁸. These elements are well represented in two components of food A: pineapple and ginseng.

Pineapple contains flavonoids and vitamin C, used for their antioxidant properties.¹⁹ Many pathologies present oxidative stress as a secondary phenomenon. Examples are abundant. The oxidative damage of blood vessels walls caused by the fats seems to play an important role in developing human arteriosclerosis. If the oxidative damage affects DNA, tumours may develop and the aging process can be accelerated. An excessive production of free radicals probably contributes to damage tissues in rheumatoid arthritis and in the intestine's inflammatory diseases (such as Crohn's disease and ulcerative colitis)²⁰.

Ascorbic acid (vitamin C) is considered the most important antioxidant in cell fluids, while α -tocopherol is the predominant liposoluble antioxidant in tissues, plasma and low density lipoproteins (LDL). Vitamin C is a hydrosoluble element with several well defined biological activities: it works as a co-substratum in the biosynthesis of protocollagen, carnicin and catecholamines, as a co-factor in some hydroxylasis, and it contributes to the activity of hepatic microsomial systems, and so on.²⁰ Flavonoids are contained in virtually every type of food of vegetable origin. They perform several different biological activities and have vasodilatative, antitumoural, antiinflammatory, antibacterial, antiallergic, antiviral and estrogenic effects; they also stimulate the immune system. In particular, they can restrain the activity of prooxidant enzymes such as lipoxigenase and cyclooxygenase, phospholipase A₂ (whose function in the inflammatory process is well known), glutation reductase and xanthin oxydase, proteinchinase, succinoxidase, mitochondrial NADH-oxydase.²⁰

Ginseng, orally given in powder, has always been empirically used to prevent cerebrovascular diseases. Recently Lim et al. have proved that the main ingredient of ginseng, ginsenosyde Rb 1, has most pharmacological properties.²¹ If infused after prosencephalon's ischemia, it protects CA1 hippocampus' neurons from lethal ischemic damage due to an overproduction of free radicals *in situ*. This protection function has been observed in canine myocardium, too.²² Ginseng, given orally, seems to accelerate hepatic regeneration and to improve hepatic damage due to hepatectomy in dogs. As Kwon et al. state, three day after the operation all blood parameters are normal, except for leucocytes, and the levels of hepatic enzymes (AST and ALT) were significantly reduced in comparison with the control group.²³

Data we have collected are preliminary, but they show some evidence that

diet may affect the cerumen's colour and quantity, similarly to what Dunstan et al. stated about dog's diet that affect cholesterol's esters and triglycerids.²⁴

Canine otitis prevention does not depend on hygiene and cleaning products only, but also on a correct diet that allows to control ear cerumen production and to inhibit an inflammatory reaction and therefore a change in the ear environment that may help develop yeasts and pathogenic bacteria.

Feeding the animals food which contains a correct balance of essential fatty acids, vitamin A and antioxidants, such as food A, seems very useful. Not only: many pets owners don't find it easy to adopt a restrictive diet for their pet that suffer from allergies. Therefore it is very important to contribute to the prevention of allergic phenomena, which are stressful for the pets, their owners and veterinarians too, through a specifically formulated food with antiallergic properties.

Key words

Ear, nutrition, food, dog

Bibliography

1. Taishin VA, Rudneva NA, Mikhailova LA: Earwax fat concentration in relation to milk fat percentage in cows. *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya* 11: 25-26, 1985.
2. Huang HP, Fixter LM, Little CJ: Lipid content of cerumen from normal dogs and otitic canine ears. *Veterinary Record* 134 (15): 381-382, 1994.
3. Hillier A: FAQs about treatment of *Malassezia* (yeast) dermatitis. *Proceedings of The North American Veterinary Conference, Orlando, 2003*, pp 236-237.
4. Masuda A, Sukegawa T, Tani H, et al: Attachment of *Malassezia pachydermatis* to the ear dermal cells in canine otitis externa. *J. Vet. Med. Sci.* 63 (6): 667-669, 2001.
5. Huang HP, Little CJ, Fixter LM: Effects of fatty acids on the growth and composition of *Malassezia pachydermatis* and their relevance to canine otitis externa. *Res. Vet. Sci.* 55 (1): 119-123, 1993.
6. Pinheiro CJ, Bates DM: *Mixed -Effects Models in S and S-Plus*. NY, Springer Verlag, 2000.
7. Bianchi E, Quintavalla F: Approccio fitoterapico nelle otiti esterne del cane. *Esperienze cliniche. Riv. Zoot. Vet.* 30 (2): 47-53, 2002.
8. Willemse T: Cutaneous adverse reactions in companion animals. *Praktische Tierarzt.* 83 (1): 24-29, 2002.
9. Beale KM: Otitis externa. *Proceedings of The North American Veterinary Conference, Orlando, 2003*, pp 201-203.
10. Koutinas AF, Tontes D: Granulomatous sebaceous adenitis in the dog. A report of two clinical cases. *Bulletin of the Hellenic Veterinary Medical Society* 45 (1):

59-66, 1994.

11. Pata YS, Ozturk C, Akbas Y, et al: Has cerumen a protective role in recurrent external otitis? *American Journal of Otolaryngology* 24 (4): 209-212, 2003.
12. Huang HP: Colour of canine cerumen. *Journal of the Chinese Society of Veterinary Science* 21 (2): 61-65, 1995.
13. Masuda A, Sukegawa T, Mizumoto N, et al: Study of lipid in the ear canal in canine otitis externa with *Malassezia pachydermatis*. *J. Vet. Med. Sci.* 62 (11), 1177-1182, 2002.
14. Watson TDG: Diet and skin disease in dogs and cats. *The Journal of Nutrition* 128 (12): 2783S-2789S, 1998.
15. Van den Broek AH, Thoday KL: Skin disease in dogs associated with zinc deficiency: a report of five cases. *J. Small Anim. Pract.* 27: 313-323, 1986.
16. Black PN, Sharpe S: Dietary fat and asthma: is there a connection? *Eur. Respir. J.* 10 (1): 6-12, 1997.
17. Rosychuk RAW, Scott-Fieseler K, White SD, Shackelford S: Nutritional management of canine atopy in 47 dogs: a retrospective study. In: *Recent Advances in Canine and feline Nutrition, Volume III*. Ed by GA Reinhart and DP Carey. Wilmington, Orange Frazer, 2000, pp 287-291.
18. Turconi G, Camera E: Dieta e asma: il ruolo degli alimenti tra i fattori di rischio e nella terapia preventiva. *La Rivista di Scienza dell'Alimentazione* 29 (2): 151-154, 2000.
19. Ogawa K, Komori S, Hidaka T, et al: Carotenoids and ascorbic acid contents in pineapple cultivars and hybrids. *Japanese Journal of Tropical Agriculture* 46 (extra issue 2): 70-71, 2000.
20. Giammarioli S, Filesi C, Sanzini E: Danno ossidativo e antiossidanti della dieta. *La Rivista di Scienza dell'Alimentazione* 27 (1): 63-76, 1998.
21. Lim JH, Wen TC, Matsuda S, et al: Protection of ischemic hippocampal neurons by ginsenoside Rb1, a main ingredient of ginseng root. *Neuroscience Research* 28 (3): 191-200, 1997.
22. Yuan SM, Pu K, Gao CR, Wg Q: Efficacy of Radix Ginseng against reperfusion after regional or global ischemia in the dog: an assessment on myocardial ultrastructure. *Medical Journal of Malaysia* 53 (2): 170-174, 1998.
23. Kwon YS, Jang KH, Jang IH: The effects of Korean red ginseng (ginseng radix rubra) on liver regeneration after partial hepatectomy in dogs. *Journal of Veterinary Science* 4 (1): 83-92, 2003.
24. Dunstan RW, Herdt TH, Mei L, et al: The role of nutrition on canine sebum secretion: a preliminary report. In: *Recent Advances in Canine and Feline Nutrition, Volume III*. Ed by GA Reinhart and DP Carey. Wilmington, Orange Frazer, 2000, pp 23-35.

Table 1
Dogs involved in the study

GROUP A				GROUP B			
Dog N°	Breed	Sex	Age (year)	Dog N°	Breed	Sex	Age (year)
1	<i>English setter</i>	M	7	16	<i>Mixed-breed</i>	M	6
2	<i>Blood hound</i>	F	10	17	<i>Mixed-breed</i>	F	10
3	<i>Pointer</i>	M	6	18	<i>Mixed-breed</i>	M	6
4	<i>Mixed-breed</i>	M	11	19	<i>Mixed-breed</i>	M	12
5	<i>Mixed-breed</i>	M	2	20	<i>Mixed-breed</i>	F	4
6	<i>Blood hound</i>	F	7	21	<i>Mixed-breed</i>	M	7
7	<i>Mixed-breed</i>	F	8	22	<i>Mixed-breed</i>	M	9
8	<i>Mixed-breed</i>	M	7	23	<i>Mixed-breed</i>	F	12
9	<i>Mixed-breed</i>	M	12	24	<i>Mixed-breed</i>	F	7
10	<i>Mixed-breed</i>	F	7	25	<i>Mixed-breed</i>	M	7
11	<i>Mixed-breed</i>	M	6	26	<i>Mixed-breed</i>	M	9
12	<i>Mixed-breed</i>	F	3	27	<i>Mixed-breed</i>	F	10
13	<i>Mixed-breed</i>	F	8	28	<i>Mixed-breed</i>	M	8
14	<i>Mixed-breed</i>	F	5	29	<i>Mixed-breed</i>	M	5
15	<i>Mixed-breed</i>	M	9	30	<i>Mixed-breed</i>	F	7

Table 2
Average analysis

FOOD A		FOOD B	
<i>Humidity</i>	8 %	<i>Humidity</i>	8 %
<i>Protein</i>	24%	<i>Protein</i>	22 %
<i>Fat</i>	11%	<i>Fat</i>	11 %
<i>Fibre</i>	2,7%	<i>Fibre</i>	2,3%
<i>Ash</i>	6 %	<i>Ash</i>	7%

Table 3
Clinical board and evaluation parameters used in the study



ANIMAL HEALTH DEPARTMENT
UNIT OF INTERNAL MEDICINE

Otologic board day 0 15 30 45 60

Dog n.	Weight	Name
Clinical signs		Breed
		Sex
Skin lesions		Age
		Coat
		Ear

PARAMETERS			
LEFT EAR		RIGHT EAR	
CLINICAL PARAMETERS			
Pinnal inflammation		Pinnal inflammation	
Crusts		Crusts	
Otalgia		Otalgia	
Ear canal temperature		Ear canal temperature	
Ear canal inflammation		Ear canal inflammation	
Cerumen/exudates: quantity		Cerumen/exudates: quantity	
Notes		Notes	
CITOLGYC PARAMETERS			
Malassezia		Malassezia	
Coccus Bacteria		Coccus Bacteria	
Rod Bacteria		Rod Bacteria	
Neutrophils		Neutrophils	
Mononuclear cells		Mononuclear cells	
Epithelial cells		Epithelial cells	
Erythrocytes		Erythrocytes	
VIDEOSCOPIC EX.		VIDEOSCOPIC EX.	
EMATOLOGIC EX.			
Notes			

CLINICAL PARAMETERS	
Value	Meaning
0	Absent/normal
1	Low
2	Mid
3	High

CITOLGYC PARAMETERS(coccus and rod bacteria, Malassezia).	
Value	Meaning
0	0-4 VMC
1	5-50 VMC
2	51-100 VMC
3	>100 VMC

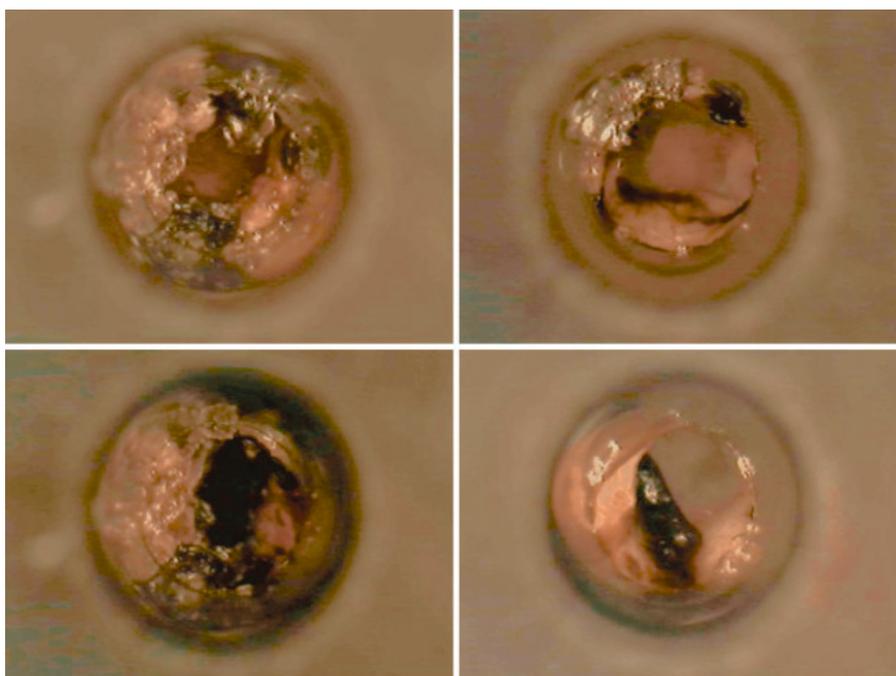
CITOLGYC PARAMETERS (neutrophils, monuclear cells, epithelial cells, erythrocytes).	
Value	Meaning
0	0 VMC
1	1-10 VMC
2	11-30 VMC
3	>30 VMC

VMC: cells medium value in a field in oil deepened (1.000X).

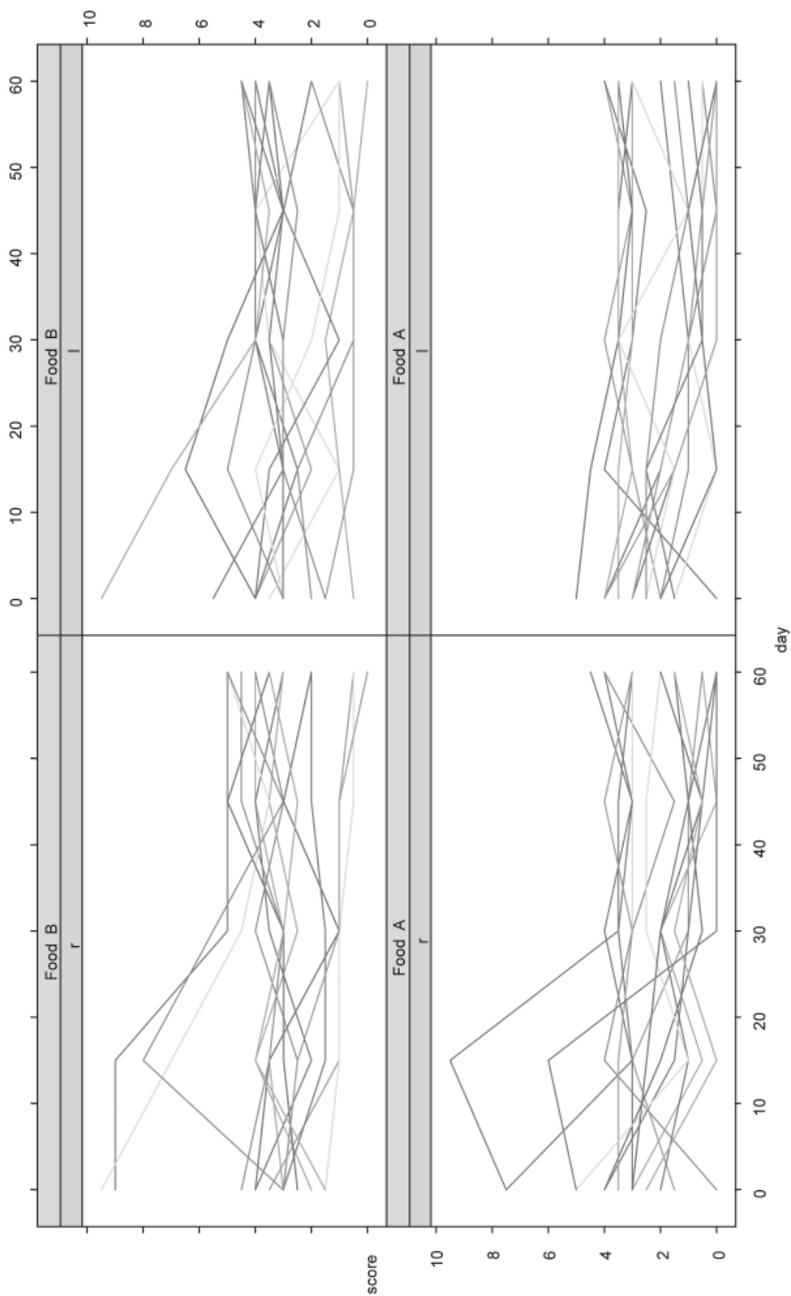
Table 4
Deviance analysis associated with random effects model

	numDF	denDF	F-value	p-value
(Intercept)	1	238	303.16529	<.0001
day	1	238	22.98332	<.0001
food	1	28	3.71936	0.0640
day:food	1	238	3.63576	0.0578

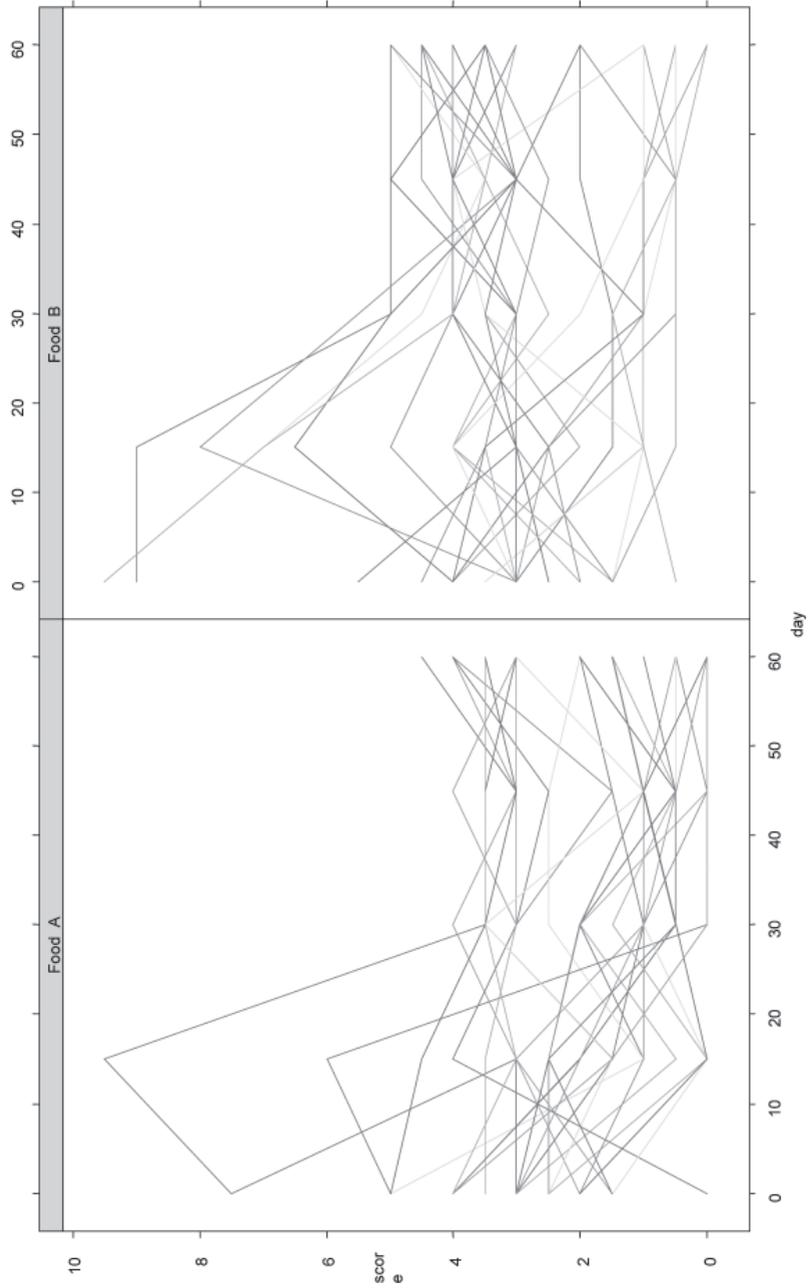
Figure 1
Ear canal photographed in its horizontal tract (left ear up, right ear down) at the beginning (day 0; photo on the left) and at the end of the study (day 60; photo on the right) in a dog among those fed with food A (Dog number 15).



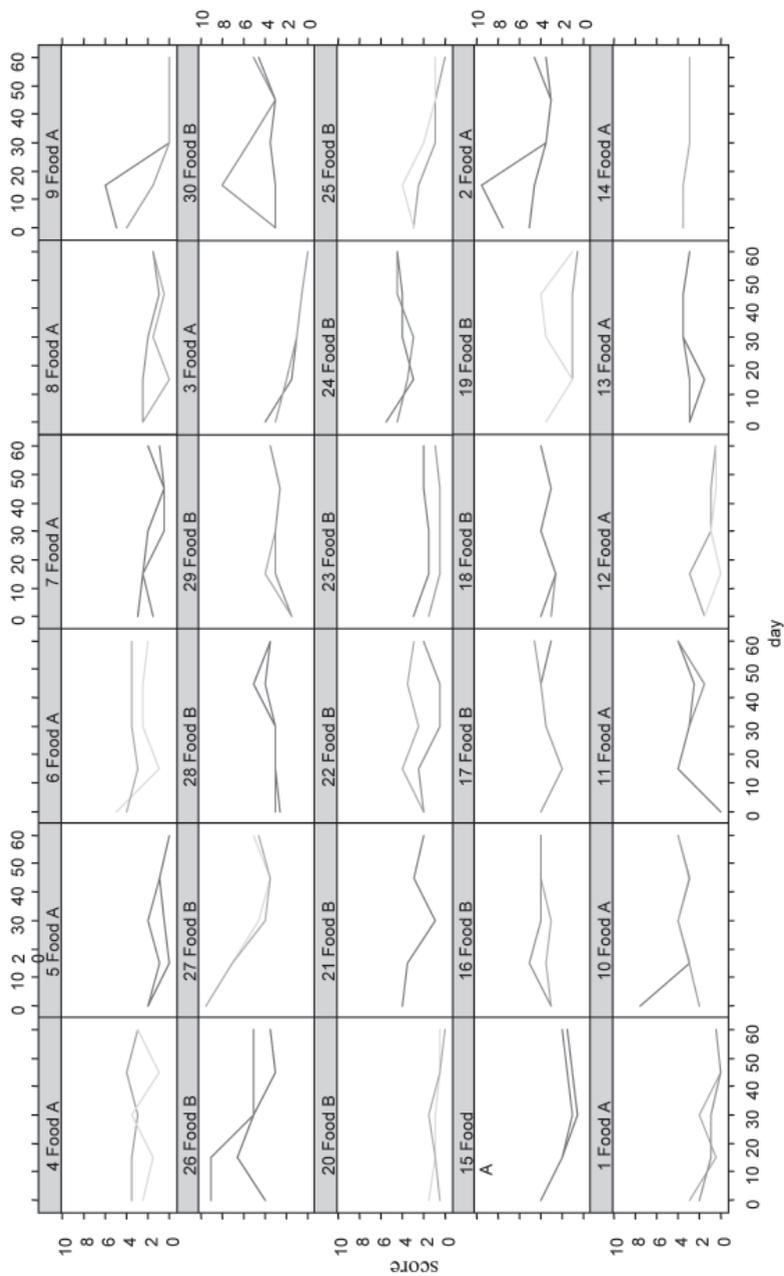
Graphic 1
Ear individual scores (right and left) and food



Graphic 2
Individual scores according to type of food



Graphic 3
Global individual scores and therapy: the two lines represent the two ears of the same animal



SIGNIFICATO CLINICO DELLA PROTEINURIA NELLE PATOLOGIE RENALI DEI PICCOLI ANIMALI

Callegari D., Bianchi E., Martelli P.

Dipartimento di Salute Animale - Sezione di Clinica Medica Veterinaria
Università degli Studi, Via del Taglio 8, 43100 Parma

INTRODUZIONE

Le patologie renali dei piccoli animali, spesso, vengono diagnosticate tardivamente, quando ormai si è istaurato un danno irreversibile per il quale l'intervento terapeutico causale può risultare inefficace. È stato valutato che in caso di insufficienza renale si ha un aumento dell'azotemia solo quando già il 75% del parenchima renale è compromesso da un punto di vista funzionale (Osborne e Finco, 1999).

Numerose patologie renali di cane e gatto sono associate a proteinuria che, in alcuni casi, come in corso di glomerulonefrite, è l'unico o il primo segno tangibile della patologia stessa (Pages e Trouillet, 1990).

Per tale motivo un'analisi quantitativa e qualitativa delle proteine urinarie è un passo fondamentale nella diagnosi precoce e, in seguito, nel monitoraggio delle patologie renali degli animali da affezione.

Una certa quantità di proteine è normalmente presente a livello urinario ed è costituita principalmente da quote variabili di proteine plasmatiche, da proteine derivanti dalle vie urinarie e, a seconda della metodica di raccolta, da quelle derivanti dalle vie genitali.

Il termine proteinuria, convenzionalmente, si utilizza per indicare la presenza di una quantità di proteine nelle urine superiore alla norma e il valore soglia è fissato in 20 mg/kg/die (Lulich e Osborne, 1990).

Le principali variabili coinvolte in questo fenomeno sono la permeabilità glomerulare e il riassorbimento tubulare: le pareti dei capillari glomerulari costituiscono dei filtri semipermeabili che mantengono la maggior parte delle proteine plasmatiche nel compartimento vascolare in base alla loro concentrazione plasmatica, alla dimensione e alla carica elettrica. Una volta che le proteine hanno attraversato il filtro glomerulare, quelle a basso peso molecolare vengono attivamente riassorbite dal filtrato tubulare, catabolizzate dalle cellule dei tubuli prossimali e rimesse in circolo come aminoacidi (vedi figura 1).

Le cellule dei tubuli renali distali, inoltre, secernono modeste quantità di proteine, quali la mucoproteina di Tamm-Horstfall e immunoglobuline A secretorie, le quali si sommano alla concentrazione proteica urinaria ma che non sembrano influenzarla significativamente.

METODICA DI ANALISI

1. RACCOLTA DEL CAMPIONE

Il campione deve essere prelevato prima della somministrazione, con finalità diagnostiche e terapeutiche, di qualunque sostanza. Inoltre, benché i test di *screening* per le proteine possano essere eseguiti anche su campioni di urine non centrifugati, questi dovrebbero sempre essere ripetuti sul surnatante di campioni centrifugati per eliminare risultati falsamente positivi causati dal materiale proteico eventualmente presente nel sedimento (cellule epiteliali, eritrociti, leucociti e cilindri).

Possono essere utilizzati sia campioni freschi che refrigerati; uno studio ha dimostrato l'assenza di sostanziali differenze nelle proteine in campioni refrigerati a temperature comprese tra i 4 e i 10°C, analizzati ripetutamente nell'arco di 4 settimane (Osborne e Finco, 1999).

2. TEST DI SCREENING

Come primo approccio può essere sufficiente una valutazione semiquantitativa delle proteine urinarie. Questa permette una prima distinzione tra pazienti proteinurici e non proteinurici, può essere effettuata con diverse metodiche attuabili ambulatorialmente ed è considerata un ottimo punto di partenza per decidere o meno se effettuare ulteriori accertamenti diagnostici.

Tra i test di *screening* si possono annoverare le seguenti metodiche:

A. **PROVA TURBIDIMETRICA:** questa prova utilizza l'acido solfosalicilico il quale provoca precipitazione delle proteine urinarie generando una torbidità direttamente proporzionale alla quantità di proteine presenti.

L'intervallo di sensibilità di questo test varia da 5 mg/dL fino a circa 5000 mg/dL.

A differenza della prova colorimetrica questo test è in grado di rilevare la presenza delle proteine di Bence Jones.

Si possono ottenere risultati *FALSAMENTE POSITIVI* qualora la torbidità sia causata da sostanze non proteiche, da mezzi di contrasto radio-opachi escreti nell'urina, da massicce dosi di penicillina, cefalotina, cefaloridina e sulfisossazolo e dal conservante timolo.

Risultati *FALSAMENTE NEGATIVI* possono essere dovuti ad urine alcaline altamente tamponate.

Inoltre, poiché la misurazione del grado di torbidità non è standardizzata, può verificarsi una variabilità dei risultati a seconda dell'esaminatore e del laboratorio.

B. **PROVA COLORIMETRICA CON STRISCE REATTIVE:** questa prova si basa sulla capacità dei gruppi amminici delle proteine di legarsi ad alcuni indicatori

acido-base alterandone il colore, anche se il loro pH rimane costante. Il legame dell'indicatore dipende dal numero di gruppi aminici liberi di ogni proteina; per questo motivo il test è molto più sensibile alle albumine, le quali possiedono numerosi gruppi aminici liberi, ma è poco sensibile alle globuline, all'emoglobina, alle proteine di Bence Jones e alle mucoproteine, che, invece, ne possiedono pochi.

L'intervallo di sensibilità di questo test varia dalla presenza di tracce (5-20 mg/dL) a circa 1000 mg/dL.

I risultati in questo caso non vengono alterati dalla torbidità dell'urina.

Risultati *FALSAMENTE POSITIVI* si possono verificare in presenza di urine molto alcaline qualora la striscia reattiva venga immersa nell'urina per un tempo sufficiente a dilavare il tampone citrato e se nel contenitore residuano quantità sufficienti di disinfettanti quali sali quaternari di ammonio (come il benzalconio) e la clorexidina.

Risultati *FALSAMENTE NEGATIVI* possono verificarsi qualora il campione venga acidificato successivamente al prelievo, in quanto le proteine possono precipitare.

- C. KIT AMBULATORIALI PER LA RILEVAZIONE DELLA MICROALBUMINURIA: sono disponibili test immunoenzimatici rapidi (ERD test® - Heska) che rilevano microalbuminuria, ovvero concentrazioni di albumina (la principale componente delle proteine urinarie) comprese tra 1 e 30 mg/dl. Questo test fornisce risultati espressi come negativo, lievemente positivo, moderatamente positivo, positivo, marcatamente positivo. Questa metodica è molto più sensibile delle precedenti (Elliott J., 2004) tuttavia resta una valutazione semiquantitativa; per approfondire la diagnosi sono necessarie indagini più specifiche.

3. VERIFICA DELLA PERSISTENZA

Poiché la proteinuria, come verrà meglio spiegato in seguito, può essere transitoria e di scarso significato clinico è sempre bene verificarne la effettiva persistenza prima di intraprendere protocolli diagnostici potenzialmente dispendiosi in termini economici e di tempo.

4. INTERPRETAZIONE IN BASE AL PESO SPECIFICO

Gli esami semiquantitativi vanno sempre interpretati sulla base del peso specifico delle urine, in quanto se una lieve proteinuria (1+) in presenza di un peso specifico elevato (1.040) può essere un reperto privo di significato clinico, in campioni più diluiti (ad esempio con un peso specifico pari a 1.015) questa è sempre significativa.

5. VALUTAZIONE QUANTITATIVA DELLA PROTEINURIA

Una volta stabilito che il paziente è proteinurico è sempre opportuno effettuare una valutazione precisa della quantità di proteine eliminate con le urine.

Non bisogna dimenticare, inoltre, che in alcuni casi i test di screening possono risultare falsamente negativi perché a bassa sensibilità. Questo si verifica soprattutto in presenza di proteinuria di origine tubulare, la quale è di entità molto minore rispetto a quella glomerulare. Per questo motivo, se il sospetto permane nonostante i test di *screening* siano risultati negativi, è preferibile effettuare anche una valutazione quantitativa della proteinuria.

Le metodiche normalmente utilizzate per il calcolo delle proteine sieriche non sono attendibili perché non abbastanza sensibili per la lettura di quantità di proteine così basse. Le proteine urinarie vengono calcolate mediante Coomassie blu brillante, mediante Rosso Pirogallo o col metodo dell'acido tricloroacetico ponceau-S (metodo turbidimetrico).

Inoltre bisogna considerare che la concentrazione proteica calcolata su un singolo campione casuale di urine non è attendibile perché l'escrezione urinaria di proteine è altamente variabile nell'arco della giornata e dipende da vari fattori quali l'orario e il livello di attività fisica. Si può ovviare a questo problema mediante due diversi accorgimenti: la misurazione complessiva delle proteine escrete nell'arco delle 24 ore o il calcolo del rapporto proteine urinarie / creatinina urinaria.

A. **ESCREZIONE GIORNALIERA:** questa metodica è piuttosto indaginosa perché richiede la raccolta di tutte le urine prodotte dal paziente nell'arco delle 24 ore; questo è possibile solo mediante l'utilizzo di una gabbia metabolica o di un catetere permanente. Inoltre una raccolta incompleta delle urine prodotte può provocare gravi errori di valutazione della perdita giornaliera di proteine. Per questi motivi tale tecnica solitamente non si utilizza nella pratica clinica ma solo a scopo di ricerca.

I mg di proteine perse nelle 24 ore si calcolano mediante la seguente formula:

$$\frac{\text{proteine presenti nelle urine (mg/dl)} \times \text{volume di urine prodotte nelle 24 h (dl)}}{\text{peso dell'animale (kg)}}$$

Applicando questa formula si ottiene un valore numerico che ha come unità di misura mg/kg/die.

In condizioni fisiologiche vengono eliminate attraverso le urine meno di 20 mg/kg/die di proteine (Lulich e Osborne, 1990).

B. **RAPPOSTO PROTEINE / CREATININA URINARIA (PU/CU):** questo test è rapido e di facile esecuzione; si è dimostrato, inoltre, avere un'eccellente correlazione con l'escrezione proteica giornaliera, con il vantaggio che non è necessario prelevare le urine prodotte nell'arco della giornata ma è sufficiente un campione *random* di urine. Tale rapporto si ottiene dividendo la concentrazione

proteica (misurata in mg/dL) per la concentrazione di creatinina (mg/dL).

La sua ottima correlazione con l'escrezione giornaliera di proteine dipende dal fatto che l'escrezione urinaria di creatinina è costante a velocità di filtrazione glomerulare costante (Vestergaard e Leverette, 1958) per cui, per quantità fisse di creatinina, la quantità di proteine eliminate risulta fissa.

Il rapporto PU/CU è considerato normale se < 0.4 nel gatto e < 0.5 nel cane e patologico se > 1 per entrambi (Elliott J., 2004); i valori compresi tra questi due limiti richiedono ulteriori accertamenti.

Il rapporto PU/CU non è influenzato dal peso specifico, dal volume, dal momento o dalla modalità di prelievo né dal contenuto proteico della dieta (White et al., 1984; Grauer e al., 1985; Lulich e Osborne, 1990).

Per l'interpretazione di questo rapporto alcuni Autori (Lulich e Osborne, 1990) suggeriscono le seguenti linee guida (stabilite in base alla comparazione del rapporto e dei campioni biotipici renali di cani con proteinuria):

- Cani con glomerulosclerosi o atrofia di varia origine hanno generalmente un rapporto < 5
- Cani con glomerulopatia non-amiloide hanno generalmente un rapporto compreso tra 5 e 13
- Cani con amiloidosi glomerulare hanno generalmente un rapporto > 13 .

Queste si propongono come indicazioni generali e non sempre valide, pertanto il rapporto PU/CU non è sufficiente a stabilire il tipo di proteinuria né la causa sottostante.

Inoltre, dal solo rapporto PU/CU non è possibile differenziare una forma glomerulare da un'essudazione postglomerulare (conseguente, per esempio, ad una infiammazione delle vie urinarie): nel caso in cui la proteinuria sia postglomerulare, infatti, le proteine in questione non passano attraverso il filtro glomerulare e per tale ragione si possono osservare rapporti marcatamente elevati senza essere in presenza di un danno glomerulare (Lulich e Osborne, 1990). Pertanto detto rapporto non deve essere preso in considerazione in soggetti con sedimento attivo, ovvero con presenza di eritrociti, leucociti o entrambi.

Il rapporto PU/CU può essere utilizzato anche nel monitoraggio della terapia.

Una diminuzione di tale rapporto, tuttavia, non necessariamente è indice di un miglioramento della patologia glomerulare: se accompagnata da un aumento della creatinina sierica è solo indice di una progressiva modificazione della disfunzione glomerulare verso un'insufficienza renale (Lulich e Osborne, 1990). Questo è vero soprattutto per i cani maschi in quanto le femmine e i gatti eliminano creatinina solamente per filtrazione glomerulare (Finco e Barsanti, 1982), mentre è stato dimostrato che per il cane di sesso maschile sono coinvolti sia la filtrazione glomerulare che la secrezione tubulare (O'Connell e al., 1962); quest'ultima è normalmente minima ma aumenta qualora aumenti la creatinina sierica (Swanson e Hakim, 1962). Per tale motivo, in pazienti con insufficienza renale azotemica, a parità di danno glomerulare, il rapporto PU/CU potrà risultare inferiore.

Infine, non bisogna dimenticare che in pazienti con ipoalbuminemia (la quale è una conseguenza diretta della perdita di albumine attraverso il filtro glomerulare e, pertanto, si aggrava nelle patologie glomerulari avanzate) il volume vascolare diminuisce a causa della ridotta pressione osmotica colloidale; a questo corrisponde una diminuzione della quantità di proteine che passano attraverso il filtro glomerulare e quindi il rapporto diminuisce nonostante il danno glomerulare non sia minore (Lulich e Osborne, 1990).

6. VALUTAZIONE QUALITATIVA DELLA PROTEINURIA

Per effettuare uno studio qualitativo della proteinuria occorre separare le varie bande proteiche; questo può essere eseguito mediante elettroforesi o mediante SDS- elettroforesi.

A. Mediante l'ELETTROFORESI la migrazione delle proteine avviene sia per massa che per carica elettrica; questo conferisce a tale tecnica alcuni svantaggi: innanzi tutto c'è la possibilità che alcune proteine a basso peso molecolare (PM), presenti in piccole quantità, si sovrappongano ad altre ad alto PM e che quindi non vengano rilevate; inoltre la lettura dei tracciati risulta più complessa, in quanto le proteine di diverso PM risultano alternate tra di loro (vedi figura 2).
Le tecniche tradizionalmente utilizzate per l'elettroforesi sierica non sono sufficientemente sensibili per la lettura delle proteine urinarie. Per tale motivo si utilizzano piastre di gel di agarosio (il quale è più sensibile dell'acetato di cellulosa) e si utilizzano coloranti specifici (Batamuzi e al., 1998).

B. L'SDS-ELETTROFORESI è una metodica particolare che utilizza un eccesso di detergente anionico sodio dodecil solfato (SDS) per convertire le proteine in complessi proteina-SDS. In questi complessi la naturale conformazione delle proteine è disgregata in modo che queste assumano tutte la stessa conformazione e la stessa carica elettrica negativa costante per unità di massa; per questo motivo si separano solo in funzione del loro PM. L'interpretazione dei tracciati risulta quindi molto più semplice: la presenza di una banda da sola nella zona dei 66.000 dalton (albumina) è ritenuta fisiologica, le proteine al di sotto di questa banda sono quelle a basso PM e quindi di origine tubulare, quelle con PM tra 66.000 e 76.000 d (a medio PM) e quelle sopra a queste (ad alto PM) sono di origine glomerulare. (Yalçin e Çetin, 2004) (vedi figura 3).

Questa tecnica può essere eseguita su gel di poliacrilamide, nel qual caso prende il nome di SDS-PAGE (sodium dodecil sulphate polyacrylamide gel electrophoresis) (Biewenga e al., 1982; Zanatta e al., 2002), o su gel di agarosio, con il nome di SDS-AGE (sodium dodecil sulphate agarose gel electrophoresis) (Zini² e al., 2004).

SOSTANZA	PESO MOLECOLARE (dalton)	Presenza nell'ultrafiltrato glomerulare
Acqua	18	Presente
Urea	60	Presente
Creatinina	113	Presente
Glucosio	180	Presente
β_2 -microglobulina	11.800	Presente
Lisozima (muraminidasi)	14.400	Presente
Mioglobina	17.600	Presente
Bence Jones (monomero)	22.000	Presente
α_1 -microglobulina	27.000	Presente
α_1 -glicoproteina acida	40.000	Presente
Bence Jones (dimeri)	44.000	Presente
Amilasi	50.000	Presente
Emoglobina (tetramero)	64.500	Talvolta presente
Albumine	66.000	Talvolta presente
Aptoglobina (monomero)	120.000	Assente
Immunoglobulina G	160.000	Assente
Immunoglobulina A (dimeri)	300.000	Assente
Fibrinogeno	400.000	Assente
α_2 -macroglobulina	840.000	Assente
Immunoglobulina M	900.000	Assente

Tabella 1: peso molecolare delle proteine normalmente presenti e assenti nel filtrato glomerulare (Osborne e Finco, 1999)

CLASSIFICAZIONE DEL TIPO DI PROTEINURIA

Come primo passo è necessario stabilire se le proteine riscontrate nelle urine sono effettivamente di origine renale. La proteinuria, infatti, può essere anche pre- o post-renale.

1. PROTEINURIA PRERENALE: la proteinuria prerenale non dipende da danni renali ma da alterazioni sistemiche preglomerulari. La proteinuria prerenale, a sua volta, può essere suddivisa in proteinuria funzionale e proteinuria da sovraccarico:

A. **PROTEINURIA FUNZIONALE:** questo tipo di proteinuria è dovuto a condizioni cliniche ed emodinamiche (come l'aumento di renina e angiotensina o di noradrenalina) che possono essere patologiche o parafisiologiche ma comunque sono indipendenti da alterazioni renali (Pages e Trouillet, 1990). Può dipendere da esercizio intenso, alte e basse temperature, eventi stressanti, febbre, interventi chirurgici, tremori e contratture muscolari, convulsioni e insufficienza cardiaca di

varia origine. Nell'uomo questo tipo di proteinuria è stato imputato ad alterazioni del flusso ematico o della permeabilità dei glomeruli (Dennis e Robinson, 1985), oltre che ad una transitoria diminuzione del riassorbimento tubulare (Poortman, 1985). Questo tipo di proteinuria è tipicamente costituito da albuminuria lieve e transitoria.

B. PROTEINURIA DA SOVRACCARICO: questo secondo tipo di proteinuria è legato ad un aumento di proteine plasmatiche tale da superare il meccanismo di riassorbimento tubulare. Pertanto tali proteine in eccesso vengono eliminate attraverso le urine (vedi figura 4).

Questo meccanismo è responsabile delle seguenti situazioni cliniche:

- a. mioglobinuria, presente in caso di rhabdomiolisi la quale può essere una conseguenza di sforzi eccessivi, traumi compressivi o schiacciamenti;
- b. emoglobinuria, in caso di fenomeni emolitici di varia natura (congenita, infettiva, tossica, carenziale o autoimmune)
- c. proteinuria di Bence Jones, ovvero presenza di catene leggere libere κ e λ . Un tempo tale fenomeno era considerato patognomonico di mieloma multiplo; attualmente, soprattutto in medicina umana, è investigato routinariamente ed ha svariati significati clinici (Molina e al., 1992).

2. PROTEINURIA POSTRENALE: la proteinuria post-renale può essere il risultato delle normali secrezioni genitali o verificarsi in seguito a danno dell'epitelio delle vie urogenitali causato da flogosi, neoplasie, ischemia o traumi ma, in ogni caso, riguarda proteine che raggiungono le urine dopo che queste hanno passato il nefrone (vedi figura 5). Questa forma di proteinuria in genere è facilmente distinguibile a causa della leucocituria e/o eritrocituria riscontrabili all'esame del sedimento.

3. PROTEINURIA RENALE: si definisce proteinuria renale quella alla cui origine sta un'alterazione strutturale o funzionale del rene stesso, la quale a sua volta può interessare il glomerulo, il tubulo o entrambe le strutture.

A. PROTEINURIA GLOMERULARE: la proteinuria glomerulare è il risultato di alterazioni della permeabilità del glomerulo. Questa può dipendere da aumento delle dimensioni o del numero dei pori o da alterazioni biochimico-strutturali della membrana capillare con alterazione delle cariche elettriche.

La proteinuria glomerulare può essere di due tipi:

- a. **SELETTIVA**, ovvero legata a glomerulopatie di grado da lieve a moderato (dette *Minimal change disease*) che consentono il passaggio di proteine plasmatiche con un ristretto intervallo di peso molecolare quali albumina e transferrina (60.000-80.000 dalton) (vedi figura 6). La presenza di una banda nella zona dei 69.000 d (albumina) si osserva anche in campioni appartenenti a soggetti clinicamente sani; per questo motivo se il rapporto è normale questa banda non è considerata patologica (Zini² e al., 2004).
- b. **NON SELETTIVA**, quando le lesioni glomerulari sono di entità maggiore e di conseguenza passano anche proteine con peso molecolare maggiore, come le

immunoglobuline e la 2-macroglobulina (vedi figura 7).

In medicina umana la selettività viene valutata attraverso degli INDICI DI SELETTIVITA' (S.I.) come quello di Cameron e Blandford (1996) che sfrutta la seguente formula:

$$S.I. = \frac{\text{IgG urine}}{\text{IgG siero}} \times \frac{\text{Transferrina siero}}{\text{Transferrina urine}}$$

Il risultato è tanto più elevato quanto meno selettiva sarà la proteinuria.

Questi indici sembrano avere un notevole valore predittivo nei confronti della remissione clinica o della progressione verso l'insufficienza renale cronica (Biewenga, 1986; Bazzi e al., 2000).

Il pattern glomerulare, in ogni caso, non permette di classificare il tipo di glomerulopatia presente. Questo è possibile solo mediante biopsia renale.

La proteinuria glomerulare può essere causata da glomerulonefriti o da amiloidosi.

Tra le cause di glomerulonefrite si possono annoverare alcune forme familiari come la glomerulopatia ereditaria del Samoiedo (Jansen e al., 1987), la glomerulonefrite familiare del Doberman pinscher (Wilcock e Patterson, 1979), la nefropatia familiare del Cocker Spaniel (Steward e MacDougall, 1985; Lees e al., 1998), la vasculopatia cutanea e glomerulare del Greyhound (Cowan e Hertzke, 2000), la glomerulopatia familiare del Bernese (Reusch e al., 1994), l'enteropatia e nefropatia proteino-disperdenti familiari del Soft-coated wheaten terrier (Littman e al., 2000) e la nefrite ereditaria del Bull Terrier (Hood e al., 1990).

Altre glomerulonefriti riconoscono una eziologia infettiva, quali leishmaniosi (Zaragoza e al., 2003; Zatelli e al., 2003), ehrlichiosi (Codner e al., 1992), borreliosi (Dambach e al., 1997), babesiosi (Camacho e al., 2004), hepatozoonosi (Macintire e al., 1997), piometra (Zaragoza e al., 2004), piodermite (Batamuzi e al., 1998), endocardite batterica (Grauer e DiBartola, 2000), epatite infettiva (Sanchez-Cordon e al., 2002), dirofilariosi (Sanchez-Cordon e al., 2002), FIP e FeLV (Werner e Gorman, 1984). Forme infiammatorie come lupus eritematoso sistemico, pancreatite cronica e prostatite (Grauer e DiBartola, 2000), neoplasie quali linfosarcoma, tumore mastcellulare o altre (Grant e Forrester, 2001), diabete mellito (Struble e al., 1998), iperadrenocorticismo (Hurley e Vaden; 1998), trattamenti prolungati con glucocorticoidi (Waters e al., 1997), ipertensione sistemica o renale (Struble e al., 1998), radiazioni (Jaenke e al., 1980) vengono riconosciute quali cause di glomerulonefrite.

Anche l'amiloidosi può essere di origine familiare o reattiva. Tra le forme familiari si possono annoverare l'amiloidosi familiare renale del cane Shar-Pei (DiBartola e al., 1990), l'amiloidosi renale del gatto Abissino (DiBartola e al., 1986) e l'amiloidosi sistemica dei gatti di razza Orientale e Siamese (Zuber, 1993).

Le forme reattive possono derivare dalle stesse patologie infettive / infiammatorie responsabili di glomerulonefrite.

B. PROTEINURIA TUBULARE: le proteine a basso peso molecolare (< 60.000), filtrate dal glomerulo non vengono rinvenute nelle urine perché riassorbite a livello tubulare. Qualora questo processo non avvenga o sia diminuito per danni a livello delle cellule dei tubuli renali si instaura una proteinuria tubulare (vedi Figura 8). Questa è costituita da proteine a basso PM associate a basse concentrazioni di albumina; quelle ad alto PM non sono presenti poiché la barriera glomerulare, integra, non viene attraversata.

Questo tipo di proteinuria in genere è molto lieve. Il tipo di pattern tubulare fornisce un'indicazione sulla gravità delle lesioni tubulo-interstiziali e sulla prognosi.

La proteinuria tubulare può essere incompleta o completa:

- a. Nella proteinuria tubulare **INCOMPLETA** si ha presenza di proteine con PM compreso tra 40.000 e 67.000 d; questo pattern è compatibile con lesioni tubulari di entità inferiore (Zini² e al., 2004).
- b. La proteinuria tubulare **COMPLETA** coinvolge tutte le proteine a basso PM, anche quelle con PM più basso (12.000-15.000 d). Si è visto che la presenza di queste proteine è associata a lesioni più gravi (Zini² e al., 2004) e, in medicina umana si è dimostrata correlata a maggiori probabilità di sviluppare in tempi più ristretti insufficienza renale cronica (Bazzi e al., 1997); questo potrebbe essere valido anche per il cane ma sono necessari ulteriori studi per avere una conferma di ciò.

Le proteinurie tubulari sono piuttosto rare. Tra le possibili cause sono citate le stesse riportate in medicina umana: alcune forme ereditarie, come la sindrome di Fanconi (Escobar e al., 1993) e altre acquisite che si possono registrare in seguito a danno delle cellule tubulari renali come in corso di intossicazione da gentamicina o da metalli pesanti, di rene policistico (Scarpa e al., 2004), di mieloma multiplo (Hoenig, 1987) e di leptospirosi (Zaragoza e al., 2003).

C. PROTEINURIA MISTA: si parla di proteinuria mista quando si verifica un'associazione di proteinuria tubulare e glomerulare, con presenza di proteine a basso, medio ed alto peso molecolare contemporaneamente.

Questa forma può essere l'evoluzione sia di una forma glomerulare che di una forma tubulare ed è il pattern di più comune riscontro. La maggior parte dei pazienti con insufficienza renale, infatti, ha un tracciato di questo tipo.

TIPIZZAZIONE IMMUNOLOGICA

È possibile tipizzare le proteine urinarie utilizzando antisieri specifici mediante *Western Blotting* (Zaragoza e al., 2003), immunoelettroforesi urinaria (Lautzenhiser e al., 2003) o immunoelettroforesi mediante SDS-elettroforesi (SDS-

AGE o SDS-PAGE) (Zini¹ e al., 2004).

Queste metodiche sono utili quando si vogliono identificare proteine specifiche, come nel caso delle catene leggere κ e λ per il mieloma multiplo.

CONCLUSIONE

Per una diagnosi eziologica di certezza in corso di patologie renali si rende spesso necessario un prelievo biotico di tessuto renale; questa indagine, tuttavia, richiede sedazione dell'animale, procedura che in molti casi non viene accettata dal proprietario del paziente. Non bisogna, inoltre, sottacere che in alcuni casi la biopsia renale è controindicata: come in presenza di disturbi della coagulazione, ipertensione, neoformazioni renali con sospetta origine neoplastica di possibile metastatizzazione, pielonefrite e ascessi renali (per rischi di disseminazione del processo infettivo), idronefrosi e patologia renale in fase terminale (Osborne e Finco, 1999).

Lo studio approfondito della quantità e del tipo di proteine urinarie, invece, si propone come una procedura semplice, economica, non invasiva e in grado di fornire informazioni comunque utili ai fini di una classificazione eziologica, di formulare una prognosi, di impostare una terapia più mirata e di monitorare la risposta del paziente alla terapia stessa. Risulta, pertanto, essere una valida alternativa alla biopsia renale in tutti quei casi in cui quest'ultima non è attuabile.

RIASSUNTO

Gli Autori illustrano le varie fasi della determinazione della proteinuria, partendo dai primi test di *screening* eseguibili ambulatorialmente, fino alle analisi più approfondite. Viene spiegato come distinguere una proteinuria renale da una pre- o postrenale e come differenziare quella renale in glomerulare, tubulare e mista. Viene fatta infine una lista diagnostica differenziale delle possibili patologie responsabili dei succitati tipi di proteinuria renale.

ABSTRACT

This article reviews the different steps of the analysis of proteinuria. It describes the preliminary screening tests, to be performed in clinical practice and the more specific analyses that need the support of equipments available in specialized labs.

The Authors also highlight how to distinguish renal, prerenal and postrenal proteinuria and how to differentiate the renal proteinuria in glomerular, tubular and mixed proteinuria. Finally a differential list of the possible causes of the different types of proteinuria is reported.

PAROLE CHIAVE

Proteinuria, nefrologia, insufficienza renale, glomerulonefrite, elettroforesi, SDS-PAGE, SDS-AGE, canina, felina.

KEY WORD

Proteinuria, nephrology, renal failure, glomerulonephritis, electrophoresis, SDS-PAGE, SDS-AGE, canine, feline.

BIBLIOGRAFIA

1. BATAMUZI E.K., KRISTENSEN F., JENSEN A.L. (1998) – Composition of protein in urine from dogs with pyoderma. **The Veterinary Record**, July 4, pp 16-20.
2. BAZZI C., PETRINI C., RIZZA V., ARRIGO G., BELTRAME A., D'AMICO G. (1997) – Characterization of proteinuria in primary glomerulonephritides. SDS-PAGE patterns: clinical significance and prognostic value of low molecular weight (“tubular”) proteins. **American Journal of Kidney Diseases**, Vol 29, No 1, pp 27-35.
3. BIEWENGA W.J., GRUYS E., HENDRIKS H.J. (1982) – Urinary protein loss in the dog: nephrological study of 29 dogs without signs of renal disease. **Research in Veterinary Science**, Vol 33, pp 366-374.
4. BIEWENGA W.J. (1986) – Proteinuria in the dog: a clinicopathological study in 51 proteinuric dogs. **Research in Veterinary Science**, Vol 41, pp 257-264.
5. CAMACHO A.T., GUITTIAN F.J., PALLAS E., GESTAL J.J., OLMEDA A.S., GOETHERT H.K., TELFORD S.R., SPIELMAN A. (2004) – Azotemia and mortality among *Babesia microti*-Like infected dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Vol 18, pp 141-146.
6. CAMERON J.S., BLANDFORD G. (1996) – The simple assessment of selectivity on heavy proteinuria. **Lancet**, Vol 2, pp 242-246.
7. CODNER E.C., CACECI T., SAUNDERS G.K., SMITH C.A., ROBERTSON J.L., MARTIN R.A., TROY G.C. (1992) – Investigation of glomerular lesions in dogs with acute experimentally induced *Ehrlichia canis* infection. **American Journal of Veterinary Research**, Vol 53, No 12, pp 2286-2291.
8. COWAN L.A., HERTZKE D.M. (2000) – Cutaneous and renal glomerulopathy of greyhound dogs. In: **Kirk's Current Veterinary Therapy XIII Small Animal Practice**; W.B. Saunders Company, pp 854-855.
9. DAMBACH D.M., SMITH C.A., LEWIS R.M., VAN WINKLE T.J. (1997) – Morphologic, immunohistochemical, and ultrastructural characterization of distinctive renal lesion in dogs putatively associated with *Borrelia burgdorferi* infection: 49 Cases (1987-1992). **Veterinary Pathology**, Vol 34, pp 85-96.
10. DENNIS V.W., ROBINSON R.R. (1985) – Proteinuria. In: Seldin DW, Giebich G, eds. **The Kidney: Physiology and Pathophysiology**. New York, NY: Raven Press, pp 1805-1816.

11. DIBARTOLA S.P., TARR M.J., BENSON M.D. (1986) – Tissue distribution of amyloid deposits in Abyssinian cats with familial amyloidosis. **Journal of Comparative Pathology**, Vol 96, pp 387-398.
12. DIBARTOLA S.P., TARR M.J., WEBB D.M., GIGER U. (1990) – Familiar renal amyloidosis in Chinese Shar Pei dogs. **Journal of American Veterinary Medical Association**, Vol 197, pp 483-487.
13. ELLIOTT J. (2004) – Insufficienza renale acuta del cane e del gatto: diagnosi, gestione e terapia. **Corso organizzato da Novartis Animal Health**.
14. ESCOLAR E., PEREZ ALENZA D., DIAZ M., RODRIGUEZ A. (1993) – Canine Fanconi syndrome. **Journal of Small Animal Practice**, Vol 34, No 11, pp 567-570.
15. FINCO D.R., BARSANTI J.A. (1982) – Mechanism of urinary excretion of creatinine by the cat. **American Journal of Veterinary Research**, Vol 12, pp 2207-2209.
16. GRANT D.C., FORRESTER S.D. (2001) – Glomerulonephritis in dogs and cats: glomerular function, pathophysiology, and clinical signs. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, Vol 23, No 8, pp 739-746.
17. GRAUER G.F., THOMAS C.B., EICKER S.W., ET AL. (1985) – Estimation of quantitative proteinuria in the dog using the urine-to-proteine ratio from a random voided sample. **American Journal of Veterinary Research**, Vol 46, pp 2116-2119
18. GRAUER G.F., DIBARTOLA S.P. (2000) – Glomerular Diseases. In: **Textbook of Veterinary Internal Medicine Disease of the Dog and Cat**. W.B. Saunders Company, pp 1662-1678.
19. HOENIG M. (1987) – Multiple myeloma associated with the heavy chains of immunoglobulin A in a dog. **Journal of American Veterinary Medical Association**, Vol 190, No 9, pp 1191-1192.
20. HOOD J.C., ROBINSON W.F., HUXTABLE C.R., BRADLEY J.S., SUTHERLAND R.J., THOMAS M.A.B. (1990) – Hereditary nephritis in the bull terrier: evidence for inheritance by an autosomal dominant gene. **Veterinary Record**, Vol 126, No 18, pp 456-459.
21. HURLEY K.J., VADEN L. (1998) – Evaluation of urine protein content in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. **Journal of American Veterinary Medical Association**, Vol 212, pp 369-373.
22. JAENKE R.S., PHEMISTER R.D., NORRDIN R.W. (1980) – Progressive glomerulosclerosis and renal failure following perinatal gamma radiation in the beagle. **Laboratory investigation**, Vol 42, No 6, pp 643-655.
23. JANSEN B., VALLI V.E.O., THORNER P., BAUMAL R., LUMSDEN J.H. (1987) - Samoyed hereditary glomerulopathy: serial, clinical and laboratory (urine, serum biochemistry and hematology) studies. **Canadian Journal of Veterinary Research**, Vol 51, pp 387-393.
24. KRAVIEC D.R. (2000) – Proteinuria. In: **Textbook of Veterinary Internal Medicine Disease of the Dog and Cat**. W.B. Saunders Company, pp. 100-102.

25. LAUTZENHISER S.J., WALKER M.C., GORING R.L. (2003) – Unusual IgM-secreting multiple myeloma in a dog. **Journal of American Veterinary Medical Association**, Vol 223, No 5, pp 645-648.
26. LEES G.E., HELMAN R.G., HOMCO L.D., MILLICHAMP N.J., HUNTER J.F., FREY M.S. (1998) – Early diagnosis of familiar nephropathy in English Cocker Spaniels. **Journal of the American Animal Hospital Association**, Vol. 34, pp 189-195.
27. LITTMAN M.P., DAMBACH D.M., VADEN S.L., GIGER U. (2000) – Familiar protein-losing enteropathy and protein-losing nephropathy in Soft Coated Wheaten Terriers: 222 Cases. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Vol 14, pp 68-80.
28. LULICH J.P., OSBORNE C.A. (1990) – Interpretation of urine protein – creatinine ratios in dogs with glomerular and nonglomerular disorders. **Compendium in Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, Vol 12, No 1, pp 59-73.
29. MACINTIRE D.K., VINCENT-JONSON N., DILLON A.R., BLAGBURN B., LINSDAY D., WHITLEY E.M., BANFIELD C. (1997) – Hepatozoonosis in dogs: 22 cases (1989-1994). **Journal of American Veterinary Medical Association**, Vol 210, No 7, pp 916-922.
30. MOLINA M., ORTEGA G., DEPACO M., MARRAS C. (1992) – Bence Jones proteinuria and systemic lupus eritematosus. **Revista Clinica Espanola**, Vol. 190; pp 282-283.
31. MOORE F.M., BRUM S.L., BROWN L. (1991) – Urine protein determination in dogs and cats: comparison of dipstick and sulfasalicylic acid procedures. **Veterinary Clinical Pathology**, Vol 20, No 4, pp 95-97.
32. O'CONNELL J.M.B., ROMEO J.A., MUDGE G.H. (1962) – Renal tubular secretion of creatinine in the dog. **American Journal of Physiology**, Vol 203, pp 985-990.
33. OSBORNE C.A., FINCO D.R. (1999) – **Nefrologia e urologia del cane e del gatto**. UTET
34. PAGES J.P., TROUILLET J.L. (1990) – Les Proteinuries. **Pratique Medicale et Chirurgicale de l'Animal de Compagnie**, Vol 25, pp 585-597.
35. PEETERS D., CLERCX C., MICHIELS L., DESMECHT D., SNAPS F., HENROTEAUX M., DAY M.J. (2000) – Juvenile nephropathy in a Boxer, a Rottweiler, a Collie and an Irish Wolfhound. **Australian Veterinary Journal**, Vol 78, No 3, pp 162-165.
36. POORTMAN J.R. (1985) – Post exercise proteinuria in humans. **Journal of American Medical Association**, Vol 253, pp 236-240.
37. REUSCH C., HOERAUF A., LECHNER J., KIRSCH M., LEUTERER G., MINKUS G., BREM G. (1994) – A new familial glomerulonephropathy in Bernese mountain dogs. **The Veterinary Record**, April 16, pp 411-415.
38. SANCHEZ-CORDON P.J., SALGUERO F.J., NUNEZ A., GOMEZ-VILLAMANDOS J.C., CARRASCO L. (2002) – Glomerulonephritis associated with simultaneous canine adenovirus-1 and *Dirofilaria immitis* Infection in a dog. **Journal of Veterinary Medicine**; Vol 49, pp 235-239.

39. SCARPA P, FEVARZANI S., FERRO E. (2004) – La proteinuria: fisiopatologia ed approccio alla valutazione qualitativa. Albori in veterinaria e realtà in medicina umana. **SUMMA**, No 2, pp 22-28.
40. STEWARD A.P., MACDOUGALL D.F. (1985) – Familial nephropathy in the Cocker Spaniel. **Journal of Small Animal Practice**, Vol 25, pp 15-24.
41. STRUBLE A.L., EDWARD C.F., NELSON R.W., KASS P.H. (1998) – Systemic hypertension and proteinuria in dogs with diabetes mellitus. **Journal of American Veterinary Medical Association**, Vol 213, No 6, pp 822-825.
42. SWANSON R.E., HAKIM A.A. (1962) – Stop-flow analysis of creatinine in the dog. **American Journal of Physiology**, Vol 203, pp 980-984.
43. VADEN S.L., PRESSLER B.M., LAPPIN M.R., JENSEN W.A. (2004) – Effects of urinary tract inflammation and sample blood contamination on urine albumin and total protein concentrations in canine urine samples. **Veterinary Clinical Pathology**, Vol. 33, pp 14-19.
44. VESTERGAARD P., LEVERETTE R. (1958) – Constancy of urinary creatinine excretion. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**; 51: 211-218.
45. WATERS C.B., ADAMS L.G, SCOTT-MONCRIEFF J.C, DENICOLA D.B., SNYDER P.W., WHITE M.R., GASPARINI M. (1997) – Effect of glucocorticoid therapy on urine proteine-to-creatinine ratios and renal morphology in dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Vol 11, No 3, pp 172-177.
46. WERNER L.L., GORMAN N.T. (1984) – Immune-mediated disorders of cats. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, Vol 14, No 5, pp 1039-1064.
47. WHITE J.V., OLIVIER N.B., REIMANN K., ET AL. (1984) – Use of protein-to-creatinine ratio in a single urine specimen for quantitative estimation of canine proteinuria. **Journal of American Veterinary Medical Association**, Vol 185, pp 882-885.
48. WILCOCK B.P., PATTERSON J.M. (1979) – Familial glomerulonephritis in Doberman pinscher dogs. **Canadian Journal of Veterinary Research**, Vol 20, pp 244-249.
49. YALÇIN A., ÇETIN M. (2004) – Electrophoretic separation of urine proteins of healthy dogs and dogs with nephropathy and detection of some urine proteins of dogs using immunoblotting. **Revue de Medicine Veterinaire**, Vol 155, No 2, pp 104-112.
50. ZANATTA R., ABATE O., BORGARELLI M., IUSSICH S., TARDUCCI A., VITTONI V., ZATELLI A. (2002) – Valutazione qualitativa della proteinuria mediante elettroforesi per pesi molecolari su gel di agarosio SDS-AGE) ai fini della localizzazione del danno renale. **Atti della Società Italiana delle Scienze veterinarie**; Vol LVI, pp 301-302.
51. ZARAGOZA C., BARRERAR., CENTENO F., TAPIA J.A., MANÉ M.C. (2003) – Characterization of renal damage in canine leptospirosis by sodium dodecyl sulphate – polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) and Western blotting of the urinary proteins. **Journal of Comparative Pathology**, Vol. 129, pp 169-178.

52. ZARAGOZA C., BARRERA R., CENTENO F., TAPIA J.A., DURAN E., GONZALEZ M., MANÉ M.C. (2003) – SDS-PAGE and Western blot of urinary proteins in dogs with leishmaniasis. **Veterinary Research**, Vol 34, pp 137-151.
53. ZARAGOZA C., BARRERA R., CENTENO F., TAPIA J.A., MANÉ M.C. (2004) – Canine pyometra: a study of the urinary proteins by SDS-PAGE and Western blot. **Theriogenology**, Vol 61, pp 1259-1272.
54. ZATELLI A., BORGARELLI M., SANTILLI R., BONFANTI U., NIGRISOLI E., ZANATTA R., TARDUCCI R., GUARRACI A. (2003) – Glomerular lesions in dogs infected with *Leishmania* organism. **American Journal of Veterinary Research**, Vol 64, No 5, pp 558-561.
55. ZINI¹ E., BONFANTI U., ZATELLI A. (2004) – Wishes to clarify subject of canine myeloma. Letters to the Editor. In: **Journal of American Veterinary Medical Association**, Vol 224, No 2, pp 196.
56. ZINI² E., BONFANTI U., ZATELLI A. (2004) – Diagnostic relevance of qualitative proteinuria evaluated by use of sodium dodecyl sulfate-agarose gel electrophoresis and comparison with renal histologic findings in dogs. **American Journal of Veterinary Research**, Vol 665, No 7, pp 964-971.
57. ZUBER R.M. (1993) – Systemic amyloidosis in Oriental and Siamese cats. **Australian Veterinary Practice**, Vol 23, pp 66-70.

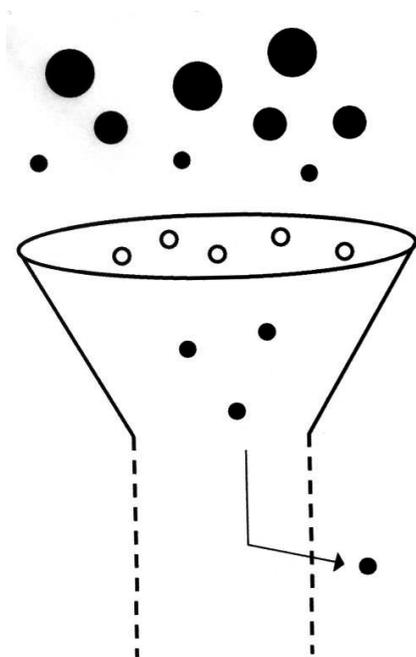


Figura 1: solo le proteine a basso peso molecolare riescono ad attraversare il filtro glomerulare; queste arrivate a livello di tubulo vengono riassorbite dalle cellule tubulari.

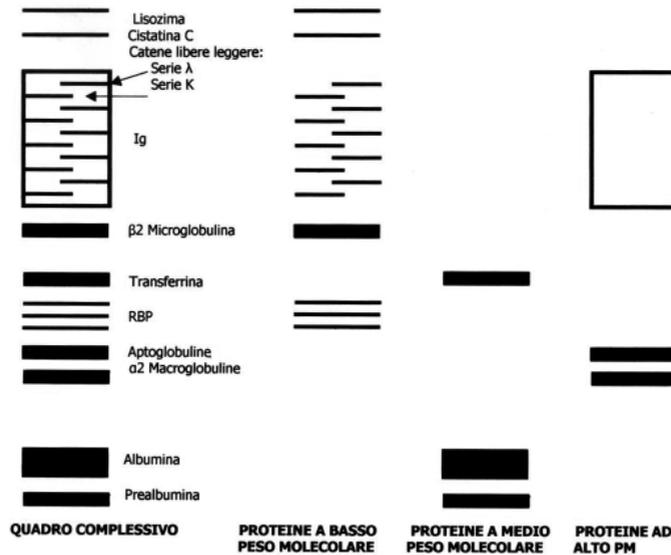


Figura 2: *proteine separate mediante elettroforesi. Tale tracciato è solo un esempio, estrapolato dalla medicina umana, utilizzato per mostrare come le proteine a basso, medio ed alto peso molecolare si alternino fra di loro e siano quindi meno facilmente distinguibili.*

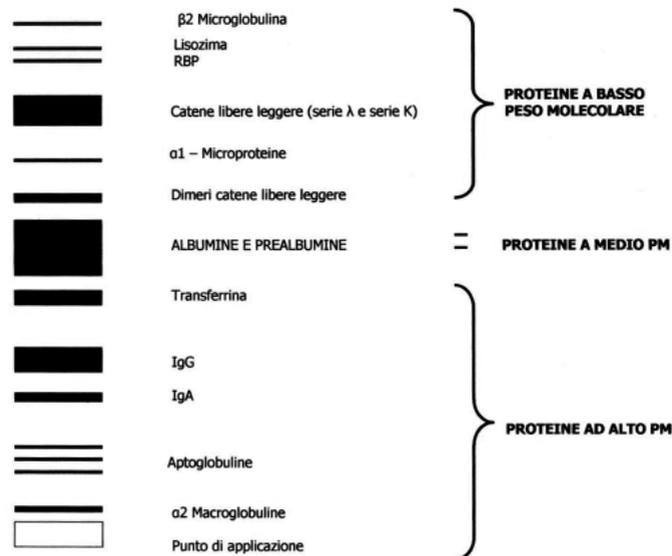


Figura 3: *proteine separate mediante SDS-PAGE. La figura mostra in modo schematico come le proteine a basso, medio ed alto peso molecolare risultino nettamente separate tra di loro in tre zone distinte.*

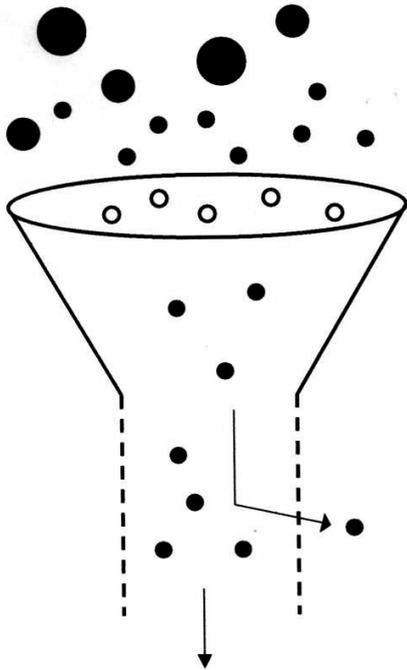


Figura 4: *proteinuria da sovraccarico: a causa dell'aumento della concentrazione sierica delle proteine si ha superamento delle capacità di riassorbimento delle cellule tubulari e quindi le proteine in eccesso vengono perse con le urine.*

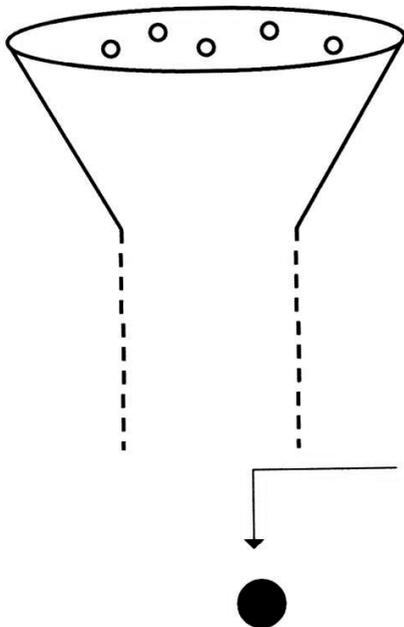


Figura 5: *proteinuria postrenale: le proteine presenti nelle urine, in questo caso, non hanno attraversato il nefrone ma sono pervenute in un secondo momento, provenendo dalle basse vie urinarie o dalle vie genitali.*

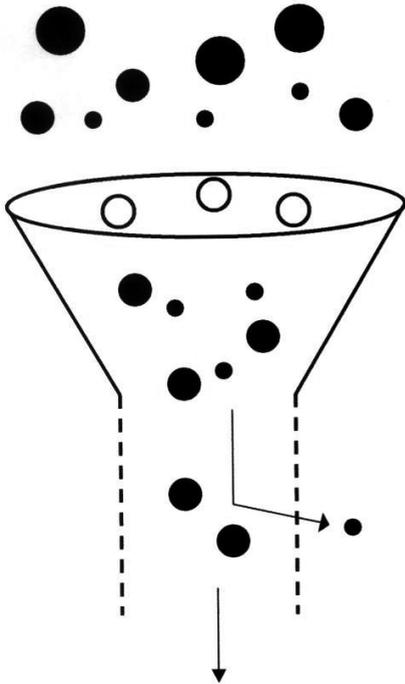


Figura 6: *proteinuria glomerulare selettiva: in seguito a lesioni limitate della membrana basale glomerulare si ha passaggio di proteine di medio peso molecolare; quelle ad alto peso molecolare, invece, non riescono ad attraversare la membrana glomerulare.*

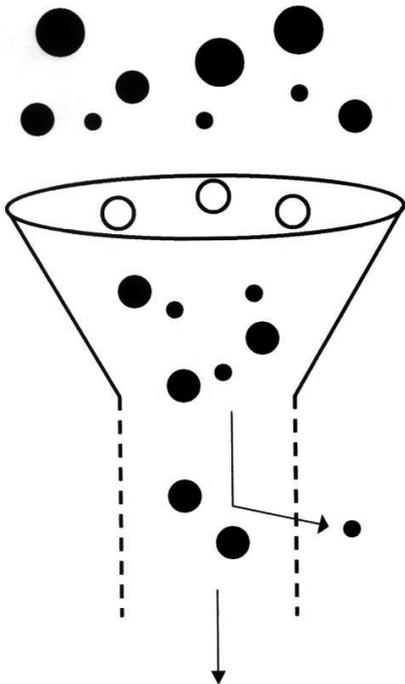


Figura 7: *proteinuria glomerulare non selettiva: in caso di danni più severi della membrana basale glomerulare anche le proteine ad alto peso molecolare riescono ad attraversarla.*

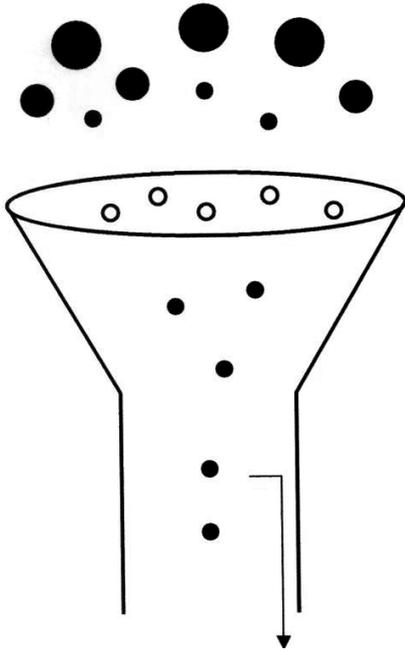


Figura 8: *proteinuria tubulare: in questo caso il glomerulo è intatto per cui non passano le proteine a medio e ad alto peso molecolare. Quelle a basso peso molecolare, a causa di danni delle cellule tubulari non vengono riassorbite e quindi sono eliminate con le urine.*

L'ELETTROCARDIOGRAFIA DINAMICA SECONDO HOLTER IN MEDICINA VETERINARIA

Antonia Mavropoulou, Cecilia Quintavalla, Giuseppe Zannetti
Dipartimento di Salute Animale – Sezione di Clinica Medica Veterinaria

RIASSUNTO: L'elettrocardiografia Holter o dinamica registra in modo continuo l'attività elettrica del cuore in pazienti impegnati nelle loro attività. Rappresenta la metodica diagnostica più attendibile per documentare la presenza, la gravità e la frequenza di aritmie cardiache e per correlare la loro presenza con eventuali segni clinici. In questo articolo sono discussi gli aspetti tecnici di tale metodica e le indicazioni cliniche del suo impiego.

SUMMARY: Holter monitoring or continuous ambulatory electrocardiography allows the continuous recording of cardiac electrical activity while the patient is engaged in normal activities. It represents the most valuable diagnostic tool to detect the presence, the gravity and the frequency of cardiac arrhythmias and to correlate their presence with clinical signs. In this paper, the technical aspects and the clinical use of Holter monitoring are discussed.

KEY WORDS: Electrocardiography, Holter monitoring, technical aspects, clinical indications, dog, cat, horse.

INTRODUZIONE

L'elettrocardiografia Holter, denominata anche elettrocardiografia dinamica, permette di registrare in modo continuo l'attività elettrica del cuore per un periodo di tempo variabile, ma generalmente fissato in 24 ore, in pazienti impegnati nelle loro normali attività quotidiane. Prende il nome dal suo inventore, il dottor Norman Holter.

Il suo uso nella medicina umana risale agli anni '50 mentre nella medicina veterinaria venne impiegata per la prima volta nel cane negli Stati Uniti negli anni '90⁽⁸⁾. Ancora oggi il suo utilizzo negli animali è piuttosto limitato, nonostante rappresenti la tecnica di elezione per la diagnosi delle aritmie cardiache, a causa dell'elevato costo dell'apparecchiatura⁽⁹⁾. Una registrazione elettrocardiografica così prolungata nel tempo, di facile esecuzione e non invasiva, rappresenta la metodica diagnostica più attendibile per documentare la presenza, la gravità e la frequenza di aritmie cardiache e per correlare la loro presenza con eventuali segni clinici (es. sincope, lipotimia)^(1,8,9,10).

La tecnica Holter è utilizzata più frequentemente nel cane, anche se può

facilmente essere impiegata nelle altre specie animali tra cui il gatto e il cavallo. Gli elettrodi sono applicati alla parete toracica e il registratore è generalmente fissato sul dorso del paziente ^(3,5,7,10). In passato, le grandi dimensioni del registratore hanno impedito l'impiego del monitoraggio dinamico in cani di razze toy o nei gatti; gli apparecchi moderni, invece, sempre più piccoli e leggeri possono facilmente essere utilizzati anche in questi casi ⁽⁷⁾.

L'elettrocardiografia ambulatoriale routinaria, a riposo o sotto sforzo, può fornire informazioni precise sulla frequenza e sul ritmo cardiaco solo per il breve periodo di tempo della durata della registrazione. Infatti, rappresenta una tecnica affidabile nella diagnosi dei disturbi del ritmo quando questi sono sostenuti o molto frequenti. Questa limitazione diventa subito evidente quando si pensa che un elettrocardiogramma della durata di 2 minuti rappresenta solo lo 0,14 % di tutte le depolarizzazioni cardiache che si succedono nelle 24 ore. Infine, il contenimento del paziente durante la registrazione come anche la presenza di estranei rappresentano dei fattori di stress che possono alterare i risultati dell'esame. La tecnica Holter consente di superare gli svantaggi dell'elettrocardiografia di routine effettuando delle registrazioni prolungate nel tempo e permettendo al paziente di continuare a svolgere la consueta attività quotidiana ⁽⁶⁾.

ASPETTI TECNICI DELLA REGISTRAZIONE HOLTER

Attrezzatura per la registrazione

L'elettrocardiografia Holter viene effettuata tramite registratori di piccole dimensioni, a cassette magnetiche o, i più recenti, contenenti microprocessori digitali, alimentati con pile e capaci di registrare fino a tre derivazioni per un periodo di 24-48 ore ⁽⁹⁾. E' opportuno ottenere la registrazione simultanea di almeno due derivazioni; questo permette un confronto, agevolando l'identificazione dell'anomalia del ritmo o della conduzione e favorendo il riconoscimento degli artefatti rispetto alla registrazione di un'unica derivazione per tracciato. Solitamente i registratori dispongono di un orologio interno, che viene regolato prima del collegamento dell'apparecchio al paziente e che permette di attribuire con certezza il segnale elettrocardiografico a un momento preciso della giornata. Sono anche forniti di un tasto "evento" che viene premuto dall'osservatore per associare certi segni clinici (sincope) o alcuni avvenimenti (sforzo, sonno) al tracciato elettrocardiografico concomitante ⁽¹⁰⁾.

Anche se il periodo di registrazione è solitamente di 24 ore, si può prolungare il monitoraggio a 48 o 72 ore se durante il periodo iniziale non sono stati rilevati segni clinici da poter associare all'ECG. Questo si ottiene semplicemente sostituendo la cassetta e la pila ogni 24 ore quando si utilizzano registratori magnetici ⁽¹⁰⁾, mentre è necessario scaricare preventivamente i dati già registrati prima di procedere alla sostituzione della batteria quando si impiegano registratori digitali.

Il registratore magnetico viene collegato al paziente attraverso un cavo costituito da cinque o sette elettrodi indipendenti solitamente contraddistinti da colori diversi che corrispondono a diversa polarità: quattro (due a polarità positiva e due a

polarità negativa) o sei (tre a polarità positiva e tre a polarità negativa) permettono la registrazione delle derivazioni mentre l'elettrodo rimanente, neutro, corrisponde alla messa a terra. I primi consentono di registrare due derivazioni contemporaneamente, i secondi tre. I più recenti registratori digitali richiedono solo quattro cavetti di connessione al paziente, di cui tre a polarità positiva ed uno a polarità negativa e consentono di registrare simultaneamente tre derivazioni. Sono quindi più pratici da applicare e funzionali (Fig.1).

Gli elettrodi sono applicati sul torace dell'animale grazie a connettori a pressione, fissati su placche adesive attaccate alla pelle con l'uso di gel adesivo^(9,10).

Preparazione del paziente, collegamento e inizio della registrazione

La preparazione del paziente è essenziale per ottenere tracciati diagnostici e ridurre gli artefatti. La posizione degli elettrodi sul torace è standardizzata e in loro corrispondenza il pelo viene tosato, la pelle sgrassata con alcool e asciugata. Il collegamento va effettuato con il paziente in stazione quadrupedale⁽⁹⁾.

In letteratura sono descritte diverse metodiche di applicazione degli elettrodi a differente polarità. Possono essere posizionati secondo una configurazione ortogonale (X, Y e Z) o precordiale (Fig. 2)⁽⁶⁾. Più frequentemente, vengono applicati nella regione del precordio destro e sinistro in modo da ottenere due derivazioni bipolari opposte. Si utilizza il sistema bipolare base-apice di due derivazioni assiali incrociate, posizionando un elettrodo negativo all'altezza della punta del cuore su un emitorace e il corrispondente elettrodo positivo sulla base del cuore sull'emitorace controlaterale, e viceversa per la seconda derivazione. L'elettrodo neutro può essere posizionato in modo casuale a breve distanza dagli altri elettrodi esploranti⁽³⁾.

Disponendo di un registratore digitale a quattro cavi si può posizionare un elettrodo positivo sulla base sinistra, un elettrodo positivo sull'apice sinistro, un elettrodo positivo sull'apice destro e l'elettrodo negativo sulla base destra. In questo modo si registrano due derivazioni a QRS positivo il cui asse corrisponde a quello della I (base destra – base sinistra) e II (base destra – apice sinistro) derivazione standard ed una terza derivazione a QRS negativo (elettrodo positivo sull'apice destro) da confrontare alle due precedenti in modo da rendere più agevole il riconoscimento dei battiti extrasistolici ventricolari (Fig. 3).

Dopo che ogni elettrodo è stato connesso alle placche adese al torace del paziente e l'operatore ha verificato l'assenza di tensione sui fili, si fissa l'apparecchio sul corpo usando cerotto o nastro adesivo e bende elastiche autoadesive (Fig. 4). La fasciatura deve consentire all'animale di muoversi liberamente e deve garantire la stabilità del sistema di registrazione per limitare gli artefatti dati dai movimenti del paziente soprattutto durante l'attività fisica^(9,10). Quando possibile, se non ci sono rischi di danni all'apparecchiatura (dal semplice scollegamento dei cavi alla rottura dei cavi o del registratore) la fasciatura dovrebbe consentire l'accesso da parte dell'osservatore al tasto "evento".

Il nome dell'animale, la data e l'ora di inizio della registrazione vengono annotati in un "diario" che è usato dal proprietario per documentare l'attività

dell'animale durante il giorno e gli eventuali segni clinici osservati.

L'animale può quindi essere dimesso e può riprendere le sue normali attività quotidiane. Le informazioni così acquisite corrispondono maggiormente alla realtà rispetto all'elettrocardiogramma effettuato nell'ambiente ambulatoriale. Talvolta può essere necessario ospedalizzare il paziente durante la fase di registrazione per la scarsa tolleranza dell'animale alla fasciatura. Questa soluzione permette di ridurre gli artefatti, ma può indurre a una sottostima (per la riduzione dell'attività fisica) o a una sovrastima (per lo stress) dei problemi del ritmo cardiaco ^(9,10).

Analisi della registrazione

Al termine del periodo di registrazione, l'apparecchio viene scollegato dal paziente e la registrazione viene analizzata da un sistema di lettura digitale dedicato. La maggior parte dei sistemi disponibili in commercio è in grado di effettuare una analisi completamente automatica anche se è sconsigliato affidarsi unicamente ad essa. Infatti, questi lettori utilizzano software disegnati per la medicina umana e possono classificare scorrettamente i battiti quando analizzano tracciati ottenuti da animali ⁽⁶⁾. Spesso infatti interpretano l'aritmia sinusale respiratoria marcata, fisiologica in alcune specie animali ma patologica nell'uomo, come complessi prematuri sopraventricolari (variabilità degli intervalli R-R), i tremori della linea isoelettrica durante le pause sinusali come fibrillazione atriale o battiti persi, mentre alcuni artefatti dovuti ai movimenti improvvisi del paziente vengono valutati come extrasistoli ventricolari. Per ridurre gli errori l'operatore può in parte agire sui settaggi dell'apparecchio fissando i limiti superiore e inferiore di normalità della frequenza cardiaca per una determinata specie o razza nonché di prematurità di un complesso. Il cardiologo deve comunque sempre completare e rivedere manualmente la lettura automatica dei tracciati correggendo gli eventuali errori del sistema di analisi ^(6,10). Ciò comporta tempi di lettura prolungati che rappresentano un'altra limitazione pratica alla diffusione della tecnica in medicina veterinaria, in quanto dispendiosa in termini di tempo.

Nel rapporto Holter finale sono incluse informazioni riguardanti l'ora di inizio della registrazione e la durata dell'analisi, la frequenza cardiaca minima, massima e media e il numero e la morfologia dei battiti ectopici ventricolari ed sopraventricolari, l'ammontare totale di tempo trascorso in bradicardia o tachicardia, sottoslivellamenti e soprasslivellamenti del segmento ST ^(9,10). Il sistema identifica la configurazione "normale" dei QRS e quindi include ogni complesso in diversi gruppi a seconda della morfologia normale o alterata. All'inizio vengono identificati vari gruppi che verranno poi valutati dall'operatore che potrà accorparli quando ritenuti variazioni della normale configurazione QRS. Inoltre il rapporto include segmenti ECG che illustrano le principali anomalie del ritmo e della conduzione riscontrate ⁽¹⁰⁾.

Il cardiologo, ottenuta l'analisi Holter, valuta la natura, il numero e la distribuzione nel tempo delle alterazioni del ritmo cardiaco diagnosticate e l'eventuale correlazione tra i segni clinici osservati e il tracciato elettrocardiografico. Infine,

completa il rapporto con le raccomandazioni terapeutiche e le indicazioni da seguire⁽⁹⁾.

INDICAZIONI CLINICHE DELL'ELETTROCARDIOGRAFIA HOLTER

Le attuali indicazioni cliniche per l'esecuzione di un esame Holter sono di tipo diagnostico e terapeutico⁽¹⁾.

Dal punto di vista diagnostico rappresenta l'esame di elezione per la diagnosi dei disturbi del ritmo e della conduzione cardiaca (conseguenti a patologie cardiache o extracardiache) ed è fondamentale per valutare e stabilire se la presenza di aritmie intermittenti è la responsabile di episodi di sincope o lipotimia ricorrenti e apparentemente inspiegabili e quale tipo di aritmia è la causa in modo da formulare una prognosi più accurata ed attuare il migliore approccio terapeutico. Questa utilità è stata dimostrata sia in pazienti con malattia cardiaca organica nota che in soggetti con disturbi primitivi del ritmo^(1,7,8,18) (Fig. 5). In alcuni casi, l'esame Holter può ridimensionare il significato e l'importanza clinica di un'aritmia che sulla base dell'ECG di routine eseguito a riposo può apparire di maggiore gravità, quantificandola e qualificandola con grande precisione (parossistica o persistente, monomorfa o polimorfa, coppie, triplette, frequenza ventricolare, numero di battiti ectopici al minuto, ecc.). Nel caso di aritmie instabili, inoltre, può risultare determinante valutare la variabilità con il lavoro ed il riposo⁽³⁾.

L'elettrocardiografia dinamica può essere utilizzata per il monitoraggio di soggetti asintomatici di razze a rischio per la ricerca di aritmie suggestive di cardiomiopatia occulta. E' stato dimostrato che nei Boxer e nei Dobermann la presenza di battiti prematuri ventricolari, in assenza di malattia extracardiaca, rappresenta un marker attendibile di cardiomiopatia dilatativa occulta. In particolare, nel Dobermann il rilievo di un numero qualsiasi di extrasistoli ventricolari deve destare preoccupazione, ma se vengono rilevati più di 50 battiti prematuri ventricolari (BPV) in 24 ore o un numero qualsiasi di coppie o triplette di BPV il risultato ha un alto valore predittivo per il successivo sviluppo di cardiomiopatia dilatativa⁽¹⁵⁾. Aritmie ventricolari parossistiche, spesso non identificate all'elettrocardiogramma di routine, sono state documentate in Boxer appartenenti a linee familiari colpite da cardiomiopatia ed è stato dimostrato che l'ectopia ventricolare, presente a volte già da 6 mesi di età, precede la malattia conclamata di circa 3-4 anni^(6,11).

L'esame Holter si è dimostrato utile anche nel caratterizzare una forma di tachicardia ventricolare ereditaria descritta nel cane Pastore Tedesco e potenzialmente responsabile di morte improvvisa in alcune linee genetiche. Secondo questo studio, cani con episodi frequenti di tachicardia, vale a dire oltre 10 salve rapide in 24 ore hanno una probabilità più elevata di morte improvvisa prima dei 18 mesi di età⁽¹³⁾ (Fig. 6).

Nei pazienti con cardiopatia nota, anche senza segni di scompenso cardiaco, la documentazione, qualificazione e quantificazione dell'aritmia presente può consentire di formulare una prognosi più accurata e modulare la terapia in modo da prevenire i rischi più gravi del mancato controllo della turba del ritmo come lo

scompenso cardiaco e la morte improvvisa. Nei Doberman clinicamente asintomatici ma con segni ecocardiografici anomali ed equivoci il numero di BPV è generalmente superiore rispetto ai soggetti con esame ecocardiografico normale (> 100 BPV/24 ore) suggerendo una correlazione col grado di disfunzione contrattile^(16,17). Dobermann con cardiomiopatia dilatativa conclamata ed episodi di tachicardia ventricolare sostenuta (> 30 secondi) sono risultati ad alto rischio di morte improvvisa⁽¹²⁾. Studi di questo tipo sono stati effettuati in gatti con cardiomiopatia ipertrofica e in cani con stenosi subartica rivelando una correlazione tra la presenza di aritmie ventricolari e il rischio di morte improvvisa^(6,7,14).

L'elettrocardiografia Holter è stata utilizzata anche per la ricerca di aritmie cardiache in uno studio prospettico su cani sottoposti a splenectomia per masse, torsione o malattie immunomediate. I risultati di questo studio indicano che una elevata percentuale (44%) di cani splenectomizzati sviluppa tachicardia ventricolare rapida dopo intervento, con una incidenza maggiore nei soggetti con rottura della massa splenica. Una pressione arteriosa intraoperatoria media bassa (< 55 mmHg per più di 15 minuti), una pressione venosa centrale media preoperatoria bassa (ad esempio per l'emorragia interna), e la leucocitosi neutrofila sono risultate significativamente associate con lo sviluppo di tachicardia ventricolare rapida post-intervento. Tali condizioni, infatti, contribuiscono al danno miocardico da riperfusione^(20, 21, 22, 23). La teoria del danno da riperfusione è supportata dai tempi medi e mediani di insorgenza di aritmia dopo intervento, ovvero 12 e 5 ore, rispettivamente, dopo innesco della cascata di riperfusione conseguentemente al risveglio dall'anestesia, la somministrazione di fluidi, il controllo dell'emorragia e la variazione di posizione del paziente con miglioramento della perfusione miocardica. I risultati di questo studio, inoltre, hanno dimostrato che l'ECG di routine intermittente (ogni 6 ore) non è accurato nel rilevare le complicanze aritmiche e che i soggetti sottoposti a splenectomia devono essere strettamente monitorati nel periodo postoperatorio per l'elevata incidenza di aritmie ventricolari rapide potenzialmente letali⁽¹⁹⁾. L'esame Holter si dimostra, quindi, utile anche nell'identificazione di turbe del ritmo in animali con patologie non cardiache ma potenzialmente proaritmiche.

Dal punto di vista terapeutico il monitoraggio Holter è uno strumento utile per la valutazione dell'efficacia di una terapia antiaritmica in atto^(1,6,9,10) ad esempio mediante la valutazione di variazioni nel numero e/o nella morfologia delle extrasistoli, e della diminuzione della frequenza ventricolare in caso di fibrillazione atriale. Studi in medicina umana indicano che affinché una terapia sia considerata efficace è necessario che comporti una riduzione di almeno il 90% dei complessi prematuri ventricolari nell'arco delle 24 ore e quindi l'utilizzo dell'ECG di routine, anche se effettuato più volte al giorno, non può dare le informazioni necessarie a tale riguardo. In letteratura sono riportati i criteri proposti per la valutazione della terapia antiaritmica nell'uomo che hanno permesso di verificare in modo oggettivo l'efficacia dei farmaci usati⁽¹⁰⁾. Nel cane è stata stimata come accettabile una diminuzione del numero di extrasistoli ventricolari nell'arco delle 24 ore dal 70 all'80% per potere distinguere tra normale variabilità ed effetto farmacologico^(6,24).

Nel cavallo, il monitoraggio Holter dopo cardioversione della fibrillazione atriale è in grado di evidenziare la presenza di fattori obiettivi di rischio per possibili

recidive, ovvero la comparsa di aritmie intermittenti, consentendo l'adozione di opportuni provvedimenti per evitare ricadute ⁽³⁾.

L'esame Holter permette inoltre di valutare in modo preciso il funzionamento dei pace-maker dopo il loro impianto ⁽¹⁾.

Oltre all'impiego dell'esame Holter nella clinica cardiologica ci sono grandi potenzialità offerte da questa metodica nella ricerca farmacologica. Attraverso il monitoraggio elettrocardiografico continuo si può valutare la risposta cardiaca a farmaci, non solo cardiovascolari, quantificare i loro dosaggi terapeutici e valutare gli eventuali effetti tossici ^(3,24,25).

Ai fini della migliore interpretazione delle registrazioni Holter sarebbe opportuno disporre di dati relativi alle normali variazioni nella frequenza cardiaca e nel ritmo, a riposo e dopo esercizio standard, che possono riscontrarsi nei soggetti sani per le varie specie animali e per le singole razze. In questo contesto vari studi hanno già dimostrato una ampia variazione della frequenza cardiaca durante il giorno e la notte nel cane e nel gatto. Con l'attività e l'eccitamento sono state registrate frequenze cardiache fino a 300 bpm nel cane e tra 250 e 295 bpm nel gatto. Episodi di bradicardia (50 bpm o meno) sono frequenti nel cane a riposo e soprattutto durante il sonno con marcata aritmia sinusale respiratoria, arresti sinusali (a volte > 5 sec) e blocco atrioventricolare di II grado ^(26, 27). Frequenze cardiache inferiori a 100 bpm e episodi di aritmia sinusale sono stati osservati anche nel gatto, ma non è mai stato rilevato blocco atrioventricolare di II grado ⁽¹⁰⁾.

In alcuni studi l'elettrocardiografia dinamica è stata utilizzata per la valutazione dell'attività del sistema nervoso autonomo nei soggetti cardiopatici attraverso la valutazione della variazione della frequenza cardiaca in relazione ai cicli nictemerali. La frequenza cardiaca nel cane sano presenta un'ampia escursione tra i periodi di veglia e sonno. Per la prevalenza del sistema parasimpatico durante il sonno c'è un abbassamento notevole della frequenza cardiaca che invece si innalza durante la veglia per l'attivazione del simpatico. Tale escursione non si osserva invece nei cani affetti da cardiopatia a causa dell'attivazione del sistema simpatico nel corso dell'insufficienza cardiaca ^(1,4).

Anche extrasistoli atriali e ventricolari possono essere riscontrate in soggetti clinicamente normali, come dimostrato in uno studio su cani Beagle. Nella razza esaminata, battiti ventricolari prematuri sono stati evidenziati nel 26% dei soggetti. Sono stati osservati bigeminismo e salve di tachicardia ventricolare ma nella maggior parte dei casi si trattava di extrasistoli isolate e sporadiche. E' stata rilevata una minore percentuale di battiti prematuri sopraventricolari ⁽²⁶⁾. Battiti prematuri ventricolari sono stati rilevati anche nel gatto clinicamente normale ⁽¹⁰⁾.

CONCLUSIONI

Nonostante i primi casi riportati in medicina veterinaria risalgano agli anni '90, l'elettrocardiografia dinamica secondo Holter non sta ricevendo la meritata attenzione e diffusione come strumento diagnostico e prognostico in cardiologia veterinaria. A fronte della molteplicità delle sue applicazioni, attualmente il suo

impiego è in gran parte limitato alla diagnosi, quantificazione e qualificazione delle aritmie e alla valutazione dell'efficacia della terapia antiaritmica (farmacologica o con pacemaker) in soggetti con malattia cardiaca nota, ma è prospettabile ed auspicabile una diffusione del suo utilizzo come metodica di screening e diagnosi precoce in razze a rischio di cardiopatia, nella ricerca clinica e farmacologica e nella medicina sportiva del cane e del cavallo.

Nonostante la sua indiscussa utilità, questa metodica risente di alcune limitazioni nella applicazione pratica. La mancanza di sistemi di lettura specifici per l'analisi dei tracciati ottenuti da pazienti animali costringe gli operatori (cardiologi veterinari) ad una lunga lettura manuale. Inoltre, il costo elevato dell'apparecchiatura limita la sua disponibilità a strutture specialistiche scarsamente diffuse sul territorio il che rende difficile l'esecuzione e soprattutto la ripetizione degli esami in tempi adeguati.

Si tratta di limitazioni che nel tempo e con i progressi delle tecnologie possono essere superate in modo che questa metodica possa trovare sempre più frequente applicazione nel campo veterinario riscontrando il successo che ha ottenuto nel campo della medicina umana.

BIBLIOGRAFIA

1. BORGARELLI M., BUSSADORI C., SANTILLI R. A. : "L'utilizzo del monitoraggio Holter nel cane con sincope, lipotimia, aritmia. Studio retrospettivo (1994- 1996) su 25 casi". *Veterinaria*, 11 (2), 5- 15, 1997.
2. BRIGHT J., CALI J.: "Clinical Usefulness of cardiac event recording in dogs and cats examined because of syncope, episodic collapse, or intermittent weakness: 60 cases (1997- 1999)". *JAVMA*, 216 (7), 1110- 1114, 2000.
3. BUSSADORI C., QUINTAVALLA C., QUINTAVALLA F., BORGARELLI M., GATTI L., ZANETTI G.: "Applicazioni cliniche dell'elettrocardiografia Holter in cardiologia equina". *Ippologia*, 8 (1), 5- 11, 1997.
4. CALVERT C., JACOBS G. : "Heart rate variability in Doberman Pinschers with and without echocardiographic evidence of dilated cardiomyopathy". *American Journal of Veterinary Research*, 61 (5), 506- 511, 2000.
5. FRANCESCHIA., BIZZETI M., SGORBINI M., CASINIL.: "Elettrocardiografia Holter in cardiologia equina: definizione di una procedura standard di registrazione". *Annali della Facoltà di Medicina Veterinaria di Pisa*, 53, 167-176, 2000.
6. GOODWIN J-K: "Holter monitoring and cardiac event recording". *Veterinary clinics of North America: Small Animal Practice*, 28 (6), 1391-1407, 1998.
7. GOODWIN J-K., LOMBARD C., GINEX D. : "Results of continuous ambulatory electrocardiography in a cat with hypertrophic cardiomyopathy". *JAVMA*, 200 (9), 1352- 1354, 1992.
8. MILLER R., LEHMUKUHL L., BONAGURA J., BEALL M. : "Retrospective Analysis of the Clinical Utility of Ambulatory Electrocardiographic (Holter) Recordings in Syncopal Dogs : 44 cases (1991- 1995)". *J. Vet. Intern. Med.*, 13,

- 111- 122, 1999.
9. TESSIER- VETZEL D., CHETBOUL V., POUCHELON J-L: "L'enregistrement Holter chez le chien". *Le Point Vétérinaire*, 226, 28- 32, 2002.
 10. WARE W: "Practical Use of Holter Monitoring". *The Compendium*, 20 (2), 167-177, 1998
 11. GOODWIN JK: "Further characterization of Boxer cardiomyopathy". *Proceedings 13th ACVIM Forum, Lake Buena Vista*, 300-302, 1995
 12. CALVERT CA, HALL G, JACOBS G, PICKUS C: "Clinical and pathological findings in Doberman Pinscher with occult cardiomyopathy that died suddenly or developed congestive heart failure: 54 cases (1984-1991). *JAVMA*, 210 (4), 505-511, 1997.
 13. MOISE NS, GILMOUR RF; RICCIO ML, FLAHIVE WF: "Diagnosis of inherited ventricular tachycardia in German Sheperd dogs". *JAVMA*, 210 (3), 403-410, 1997.
 14. LEHMKUHL LB, BONAGURA JD: "CVT update: Canine subvalvular aortic stenosis. In Bonagura JD (Ed): *Kirk's Current Veterinary Therapy XII*, Philadelphia, WB Saunders, 822-827, 1995
 15. CALVERT CA, JACOBS GJ, SMITH DD, RATHBUN SL, PICKUS CW.: "Association between results of ambulatory electrocardiography and development of cardiomyopathy during long term follow-up od Doberman Pinschers. *JAVMA*, 216 (1), 34-39, 2000
 16. CALVERT CA, JACOBS G, PICKUS CW, DMITH DD: "Results of ambulatory eletrocardiography in overtly healthy Doberman Pinschers with echocardiographic abnormalities". *JAVMA*, 217 (9), 1328-1332, 2001
 17. CALVERT CA, WALL M: "Results of ambulatory eletrocardiography in overtly healthy Doberman Pinschers with equivocal echocardiographic evidence of dilated cardiomyopathy". *JAVMA*, 219 (6), 782-784, 2001
 18. CALVERT CA, JACOBS GJ, PICKUS CW: "Bradycardia-associated episodi weakness, syncope, and aborted sudden death in cardiomyopathic Doberman Pinschers". *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 10 (2), 88-93, 1996.
 19. MARINO DJ, MATTHIESEN DT, FOX PR, LESSER MB, STAMOULIS ME: "Ventricular arrhythmias in dogs undergoing splenectomy: a prospective study". *Veterinary Surgery*, 23, 101-106, 1994.
 20. FORMAN MB, RENU V, PUETT DW: "Mechanisms and therapy of myocardial reperfusion injury". *Circulation*, 81, 69-78, 1990
 21. KLONER RA, PRZYKLENK K, WHITTAKER P: "Deleterious effects of oxygen radicals in ischemia/reperfusion". *Circulation*, 80, 1115-1127, 1989.
 22. ENGLER RL: "Free radical and granulocyte-mediated injury during myocardial ischemia and reperfusion". *Am. J. Cardiol.*, 63, 19-23, 1989.
 23. ROCHAT MC: "An introduction to reperfusion injury". *Comp. Cont. Educ. Pract. Vet.*, 13, 923-930, 1991.
 24. CALVERT CA, PICKUS CW, JACOBS GJ: "Efficacy and toxicity of tocainide for the treatment of ventricular tachyarrhythmias. *Journal of Vet. Int. Med.*, 10 (4), 235-240, 1996.
 25. KUUSELA E, RAEKALLIO M, HIETANEN H, HUTTULA J, VAINIO O: "24-

- hour Holter monitoring in the perianaesthetic period in dogs premedicated with dexmedetomidine”. The Veterinary Journal, 164, 235-239, 2002.
26. ULLOA HM, HOUSTON BJ, ALTROGGE DM: “Arrhythmia prevalence during ambulatory electrocardiographic monitoring of Beagles”. Am. J. Vet. Res., 56 (3), 275-281, 1995.
27. HALL LW, DUNN JK, DELANEY M: “Ambulatory electrocardiography in dogs”. Vet. Rec., 129, 213-216, 1991.

FIGURE E DIDASCALIE

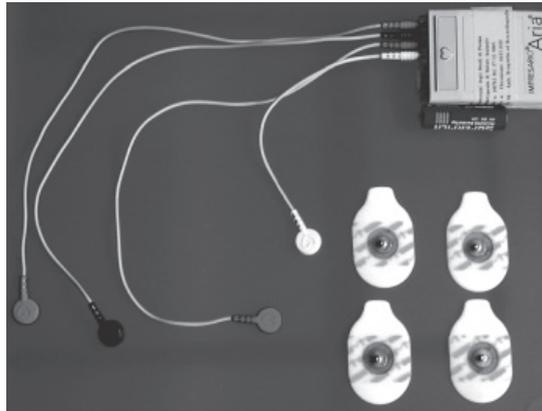


Fig. 1: *Attrezzatura per la registrazione: registratore digitale a 4 cavetti con 3 elettrodi a polarità positiva ed 1 (bianco) a polarità negativa, pila e placche adesive. Questo sistema consente di registrare simultaneamente 3 derivazioni con solo quattro elettrodi applicati al torace del paziente*

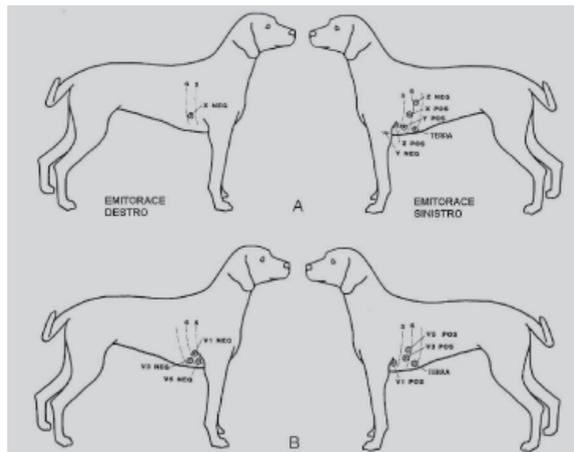


Fig. 2: *Schema di applicazione degli elettrodi secondo la configurazione X, Y, Z o precordiale (modificato da Goodwin JK, 1998).*

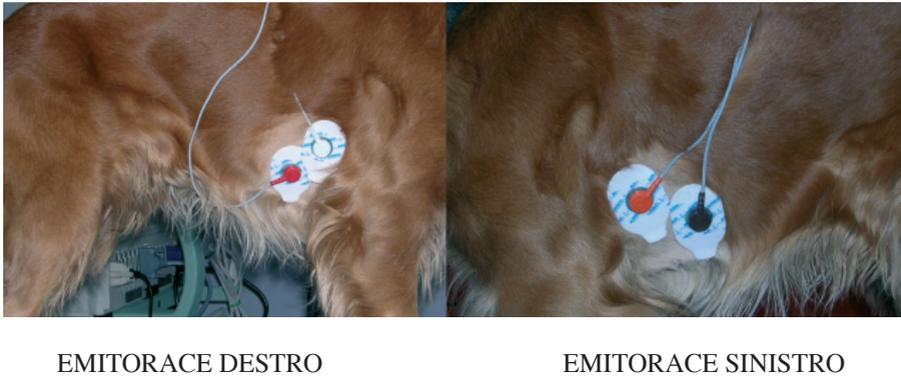


Fig. 3: *Schema di applicazione degli elettrodi utilizzato con il registratore digitale a 4 cavi.*



Fig. 4: *Fasciatura del paziente con ovattina e bende elastiche autoadesive per stabilizzare il sistema di registrazione consentendo all'animale di muoversi liberamente.*

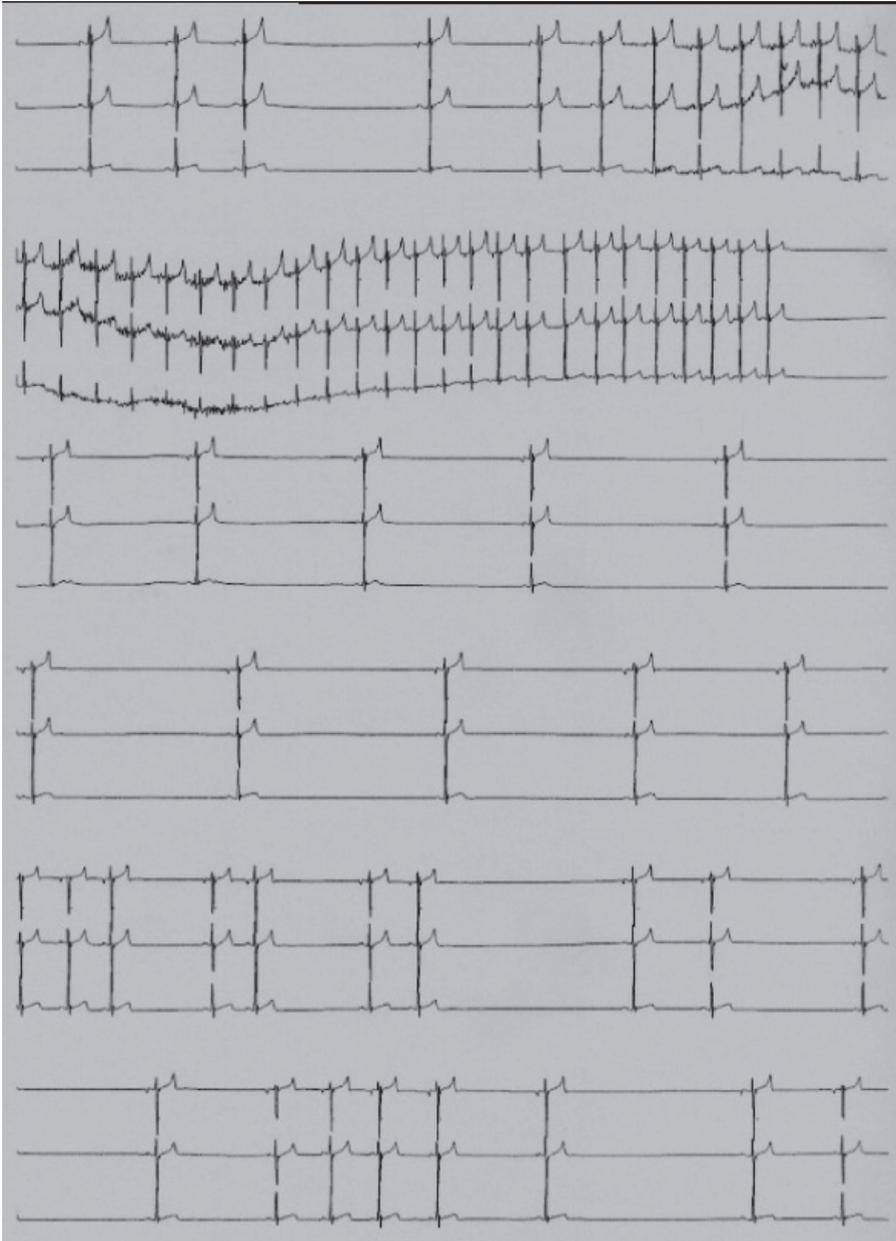


Fig. 5: *Alternanza di tachicardia sinusale e spiccata bradicardia sinusale in un cane con malattia del nodo del seno asintomatica.*

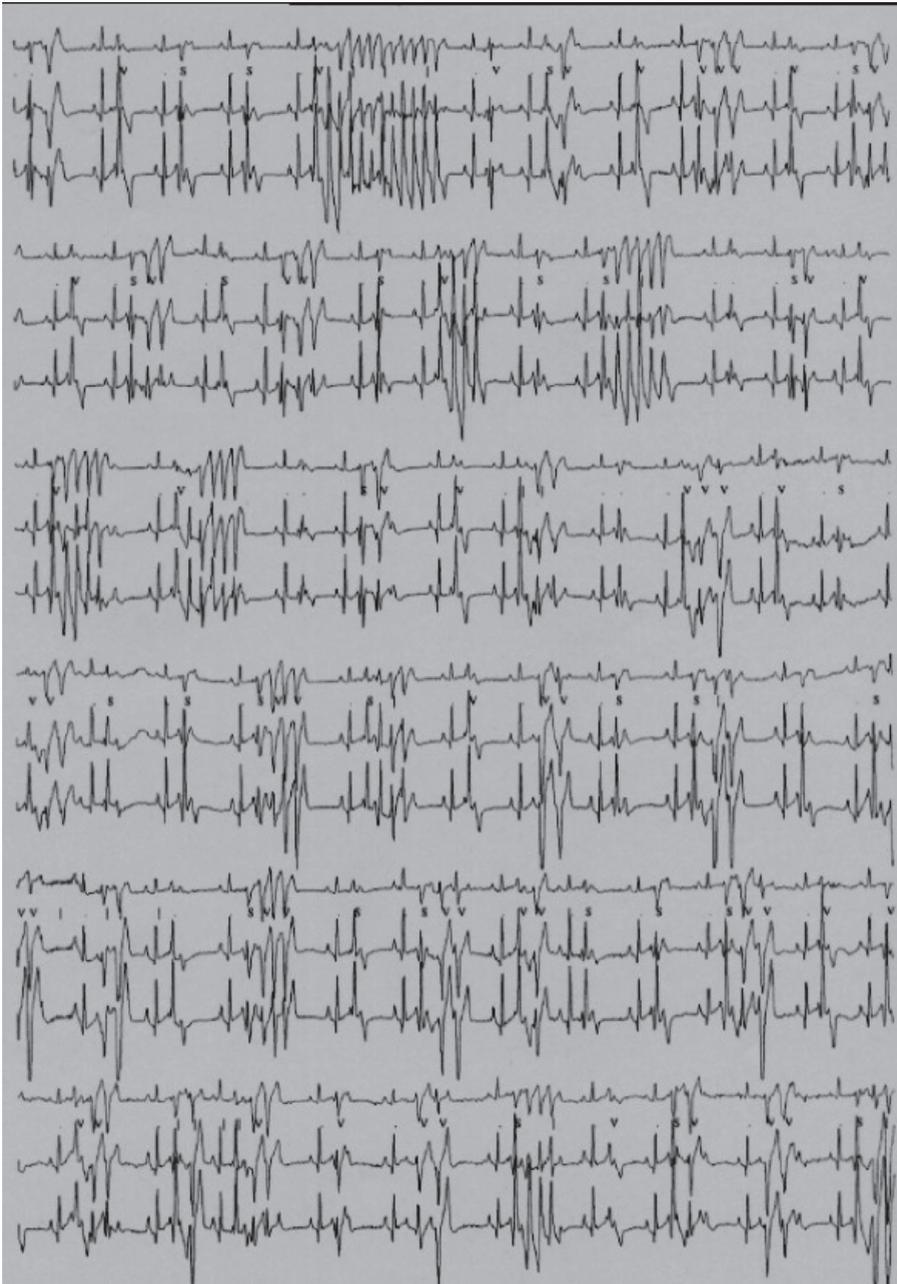


Fig. 6: *Frequenti extrasistoli ventricolari con salve di tachicardia ventricolare parossistica non sostenuta in un Pastore Tedesco, maschio, di 4 mesi, con manifestazioni sincopali.*

IMPIEGO DEI POTENZIALI EVOCATI ACUSTICI DEL TRONCO ENCEFALICO (BAEP) AI FINI DIAGNOSTICI E PROGNOSTICI NELLE PATOLOGIE VESTIBOLARI DEI PICCOLI ANIMALI

E. Bianchi¹, D. Callegari¹, M. Dondi

Introduzione

Il sistema vestibolare è formato da due componenti, una periferica, costituita dal labirinto membranoso dell'orecchio interno e dalla porzione vestibolare dell'VIII nervo cranico, e una centrale, formata dai nuclei vestibolari presenti nel midollo allungato e da neuroni posti nella porzione rostrale del cervelletto (Thomas, 2000). Il sistema vestibolare consente la trasduzione delle forze generate dalla gravità e dal movimento in segnali nervosi attraverso i quali il cervello può determinare la posizione della testa nello spazio. La rielaborazione di queste informazioni permette di modulare e coordinare il movimento, favorendo il mantenimento dell'equilibrio, il corretto posizionamento della testa e la regolazione dei movimenti oculari.

Le lesioni del sistema vestibolare causano deficit neurologici spesso eclatanti a carico della postura della testa e del tronco, dell'equilibrio e dei movimenti oculari.

L'incidenza delle patologie vestibolari nella clinica dei piccoli animali è elevata, e di fondamentale importanza è la capacità del clinico di identificare queste forme, di suddividerle in patologie periferiche e centrali e di identificarne la causa per poter proporre terapie mirate ed emettere prognosi precise.

Obiettivo di questo articolo è di trattare brevemente i quadri clinici e strumentali che caratterizzano le patologie vestibolari del cane e del gatto. Verrà inoltre messa in luce, attraverso la presentazione di casi clinici, l'utilità dei potenziali evocati acustici del tronco encefalico (BAEP) nel corso dell'inquadramento diagnostico e prognostico del paziente affetto da sindrome vestibolare.

Segni clinici di patologia vestibolare

I segni di disfunzione vestibolare si manifestano come alterazioni nell'orientamento della testa, degli arti e degli occhi. I più comuni segni clinici sono la deviazione della testa (*head tilt*), il nistagmo e l'atassia (Bagley, 2000). L'identificazione e lo studio di questi ed altri segni attraverso un accurato esame neurologico permette solitamente di localizzare il lato e la sede della lesione/i

¹ Sezione di Clinica Medica Veterinaria - Dipartimento di Salute Animale - Università di Parma

responsabile della sintomatologia.

Il primo obiettivo che si pone il clinico nella visita di un paziente affetto da patologia vestibolare è di stabilire se si tratta di una forma periferica o centrale. Questa distinzione è fondamentale per l'identificazione delle possibili diagnosi differenziali e quindi per la stesura di un piano diagnostico. Anche dal punto di vista prognostico le forme centrali e quelle periferiche differiscono marcatamente, avendo le seconde spesso una prognosi più favorevole delle prime.

L'**head tilt** è il segno più comune di malattia vestibolare unilaterale (Thomas, 2000) ed è rivolto solitamente verso il lato colpito dalla lesione. Le patologie centrali possono determinare rotazione della testa sia verso un lato che verso l'altro. Nelle forme bilaterali invece non vi è di solito *head tilt*.

L'**atassia** è spesso presente e si manifesta con un ampliamento della base d'appoggio, barcollamento e, nelle forme monolaterali, movimenti di maneggio e cadute verso il lato colpito. A questi segni nelle forme vestibolari centrali si possono associare **paresi** e/o **deficit propriocettivi ipsilaterali**.

Il **nistagmo patologico** è spesso segnalato, almeno nelle fasi iniziali, in corso di patologie vestibolari, con la sola eccezione delle forme bilaterali. Si può evidenziare nella **forma spontanea**, che si riscontra anche quando la testa è ferma e in posizione fisiologica, e in quella **posizionale**, nella quale il movimento oculare si evidenzia solo con la testa ferma in posizioni inusuali, ad esempio estesa e rivolta verso l'alto. Le forme vestibolari periferiche sono caratterizzate di solito da nistagmo orizzontale o rotatorio, quelle centrali possono associarsi a nistagmo orizzontale o rotatorio, ma anche a nistagmo verticale o a nistagmo che cambia di direzione al variare della posizione della testa. La direzione del nistagmo viene definita per convenzione come quella della sua fase rapida, e quest'ultima è diretta solitamente verso il lato opposto rispetto a quello colpito.

Uno **strabismo posizionale ventrale** o ventrolaterale viene talvolta riscontrato nelle patologie vestibolari. Si evidenzia con la testa estesa sul collo e rivolta verso l'alto, ed è solitamente ipsilaterale rispetto alla lesione.

Deficit di altri nervi cranici e la **sindrome di Horner** possono essere riscontrati nelle forme vestibolari. In particolare il nervo facciale e le fibre oculosimpatiche possono essere colpite in alcune forme periferiche nel tratto in cui decorrono in prossimità dell'orecchio interno. Alterazioni funzionali del nervo facciale e degli altri nervi cranici, ma solitamente non la Sindrome di Horner, si possono riscontrare anche nelle patologie che causano Sindrome Vestibolare Centrale (Thomas, 2000).

Utile ai fini dell'identificazione delle patologie vestibolari centrali può essere talvolta la valutazione dello stato mentale, poiché in queste forme il **sensorio** è spesso **depresso** a causa del coinvolgimento del sistema reticolare attivante (Oliver et al., 1997).

Se nella maggior parte dei casi la valutazione di questi ed altri punti dell'esame neurologico, insieme con la raccolta del segnalamento e dell'anamnesi permette il raggiungimento di una localizzazione di sospetto, in alcuni casi ciò può risultare difficoltoso. Un esempio di forma a difficile localizzazione è la Sindrome Vestibolare Paradossa, che viene causata solitamente da lesioni monolaterali occupanti spazio

a carico del lobo flocculonodulare del cervelletto o della porzione sopramedullare del peduncolo cerebellare caudale. In queste forme l'atassia e l'*head tilt* sono rivolti verso il lato opposto a quello colpito, mentre il nistagmo è verso il lato colpito. Solitamente in queste forme le alterazioni delle reazioni posturali o degli altri nervi cranici presenti aiutano a localizzare la lesione (LeCouteur, 2002).

Esami collaterali

Gli esami collaterali impiegati per confermare la localizzazione di sospetto della lesione e per raggiungere una diagnosi eziologica della forma morbosa in atto sono riportati nella tabella 1. La scelta tra queste tecniche diagnostiche viene effettuata prendendo in considerazione primariamente la localizzazione di sospetto della lesione e le possibili diagnosi differenziali unitamente ad altri elementi pratici quali la capacità del soggetto di tollerare la procedura (ad esempio, nel caso di indagini da effettuare in anestesia generale o di procedure invasive) e le disponibilità economiche del proprietario.

Tabella 1. *Utilità degli esami diagnostici collaterali e forme nelle quali vengono utilizzati in corso di patologie vestibolari.*

Esame collaterale	Pat. Vest. Periferica	Pat. Vest. Centrale	Sospetto diagnostico
Otosopia/miringotomia	++	-	Otite media-interna
Emocromo	+	-	Otite media-interna
Ormoni tiroidei	++	-	Ipotiroidismo
Test Sierologici/PCR	-	++	Cimurro, FIP, Ehrlichiosi/ Rickettsiosi, Toxoplasma/ Neospora
Esame Liquor	-	++	Cimurro, FIP, Ehrlichiosi/ Rickettsiosi, Toxoplasma/ Neospora; Neoplasia
RX Cranio	+	-	Otite media-interna, Polipo infiammatorio/ Neoplasia orecchio medio-interno.
TAC/RMN	++	++	Pat. Infiammatorie e Neoplasie orecchio medio-interno ed encefalo.
BAEP	+	+	Pat. orecchio medio-interno e tronco encefalico.
Timpanometria	+	-	Pat. orecchio medio-interno.

- = non utile; + = utile; ++ = molto utile.

Come riportato nella tabella 1, gli unici esami collaterali utili ai fini diagnostici sia nelle forme periferiche che in quelle centrali sono le tecniche di diagnostica per immagini avanzate come TAC e Risonanza Magnetica Nucleare (RMN), e lo studio del test elettrodiagnostico BAEP. Quest'ultimo esame ha l'indubbio svantaggio rispetto a TAC e RMN di non fornire informazioni di tipo eziologico né di caratterizzare dal punto di vista anatomico l'estensione del processo morboso. Ma, d'altra parte, ha alcuni aspetti positivi: fornisce informazioni sulla funzionalità delle strutture nervose studiate e non richiede l'anestesia generale del soggetto da testare. Presenta inoltre una scarsa invasività e una relativa economicità.

BAEP test

Le basi anatomiche e fisiologiche del BAEP test e le tecniche di esecuzione nella pratica clinica dei piccoli animali sono state già trattate in passato (Dondi e Bianchi, 1997). In breve, questo test valuta la funzionalità di parte della via acustica attraverso la registrazione di potenziali elettrici generati a livello di varie componenti della via nervosa dell'udito in seguito ad una stimolazione sonora o vibratoria dell'orecchio. I potenziali elettrici normalmente registrati vanno da 5 a 7 (figura 1), vengono denominati per convenzione con i numeri Romani, e ciascuno di essi corrisponde ad una struttura nervosa ben precisa.

Il potenziale o onda I corrisponde all'attivazione dell'ottavo nervo cranico, l'onda II deriva dall'attivazione del nucleo cocleare, l'onda III sembra essere prodotta a livello del ponte dal nucleo dorsale del corpo trapezoide. L'ultima onda di interesse clinico, che è la V, ha invece come generatore il collicolo caudale. Essendo sia nella porzione periferica, nell'orecchio interno, che in quella centrale, a livello di tronco encefalico, le due componenti dell'VIII nervo cranico in stretti rapporti di contiguità, le lesioni a carico dell'una si ripercuotono solitamente anche sull'altra componente. Da qui la possibilità di usare i BAEP anche nelle patologie vestibolari, e non solo in quelle cocleari o comunque nelle sordità (Steiss et al., 1994; Fischer e Obermaier, 1994; Bagley, 2000).

Lo studio dei BAEP nei soggetti affetti da sindrome vestibolare può aiutare il medico veterinario sotto 2 punti di vista. Da un punto di vista clinico, poiché permette solitamente di distinguere in modo oggettivo le forme periferiche da quelle centrali. Da un punto di vista prognostico e del monitoraggio terapeutico, perché se eseguito a distanza di alcuni giorni sullo stesso soggetto può aiutare ad identificare precocemente modificazioni in positivo o negativo della conduzione a livello di orecchio interno e/o di tronco encefalico. I parametri presi in considerazione nella valutazione di un tracciato BAEP sono: la morfologia del tracciato, le ampiezze delle onde, la latenza assoluta delle onde e la latenza relativa tra le onde I, III e V. L'ampiezza si misura in mA e rappresenta il voltaggio dei potenziali registrati; per evitare che questi potenziali vengano mascherati dal "rumore" elettrico derivante dall'attività muscolare e dall'ambiente circostante si effettua l'*averaging* di 500-1000 registrazioni e si esegue l'esame previa sedazione del paziente. La latenza è

il tempo (misurato in ms) che separa lo stimolo dal picco dell'onda, nel caso della latenza assoluta, e i picchi delle onde tra loro, nel caso delle latenze relative.

Caso clinico n. 1

Sindrome vestibolare destra ad insorgenza subacuta in cane, meticcio, femmina di 12 anni con depressione del sensorio, lieve *head tilt* destro e nistagmo posizionale orizzontale sinistro. Non consentendo il proprietario all'esecuzione di TAC o RMN dell'encefalo si effettua esame BAEP, senza sedazione, dal quale si evidenzia una morfologia dei tracciati normale con alterazione a carico della latenza interpicco I-V di destra che è maggiore rispetto alla controlaterale e ai valori di riferimento (figura 2A). Il quadro neurologico si aggrava progressivamente e rapidamente nell'arco di 7 giorni fino ad arrivare allo stato stuporoso, con *head tilt* destro, nistagmo posizionale orizzontale sinistro, strabismo posizionale sinistro e destro, deficit bilaterali delle reazioni posturali. Il tracciato BAEP conferma il marcato aggravamento del quadro clinico del paziente. Si evidenzia infatti un'alterazione morfologica del tracciato bilateralmente con riduzione di ampiezza delle onde III, più evidente a destra dove non è praticamente più visibile, e aumento dell'intervallo I-V bilateralmente (figura 2B). L'esame clinico e strumentale del paziente porta ad emettere una diagnosi di sospetto di sindrome vestibolare centrale bilaterale, prevalentemente destra, dovuta a massa occupante spazio con ripercussioni sull'integrità del tronco encefalico. Il soggetto va incontro a morte 2 giorni dopo. Il sospetto diagnostico non può essere confermato in quanto il proprietario si oppone all'esecuzione dell'esame autoptico.

Caso clinico n. 2

Sindrome vestibolare destra ad insorgenza iperacuta in cane, meticcio, femmina di 13 anni. Il cane ha *head tilt* destro, nistagmo che cambia di direzione al cambiare di posizione della testa, atassia asimmetrica verso destra, senza deficit posturali o motori, né deficit dei nervi cranici. Ha inoltre avuto vomito all'inizio della sintomatologia. L'esame otoscopico e l'Rx delle bolle timpaniche non evidenziano nessuna alterazione. Si procede quindi all'esecuzione dell'esame BAEP, nel quale si riscontra a destra un tracciato piatto, mentre a sinistra il tracciato appare normale come morfologia e le onde presentano ampiezze e latenze normali (figura 3A). Sulla base dei BAEP e delle altre indagini si ritiene che la sintomatologia sia causata da una lesione del sistema vestibolare periferico, nonostante la presenza di un nistagmo non tipico di queste forme. La mancanza di alterazioni riscontrabili a carico di orecchio esterno e medio, e l'assenza all'anamnesi di episodi pregressi di otite porta ad emettere una diagnosi di sospetto di forma idiopatica del cane anziano. Al controllo a distanza di 13 giorni permane l'*head tilt* destro, mentre l'atassia si è risolta. Nel tracciato BAEP di controllo eseguito in quell'occasione si evidenzia un tracciato normale anche a

destra (figura 3B). Il recupero spontaneo in assenza di terapia antibiotica conferma quindi la diagnosi di sindrome vestibolare periferica idiopatica del cane anziano. Queste forme, pur essendo solitamente associate a BAEP normali (Sorjonen, 1989), nell'esperienza degli autori possono talvolta presentarsi anche con BAEP alterati.

Conclusioni

L'iter diagnostico nelle patologie vestibolari ha come momento cruciale la distinzione tra le forme periferiche e quelle centrali. Qualora questa differenziazione non risulti certa al termine dell'esame neurologico è necessario avvalersi di esami diagnostici strumentali. Tra questi spesso utile può risultare il BAEP test, poiché, valutando la funzionalità della via acustica nel tragitto che va dall'orecchio interno al mesencefalo, può consentire l'identificazione di lesioni a carico delle strutture dell'apparato vestibolare presenti in queste sedi. Questo esame inoltre, come altri test collaterali, può essere di aiuto nel raggiungimento di una diagnosi anatomica più precisa e ai fini prognostici e nella valutazione dell'evoluzione della patologia vestibolare.

Per la definizione delle cause precise del processo morboso è invece necessario avvalersi di altre metodiche di indagine che danno informazioni di natura eziologica (TAC, RMN, esame del liquido cefalo-rachidiano, test sierologici, microbiologici ed ormonali, esami bioptici etc.)

Parole chiave: malattia vestibolare, cane, gatto, BAEP.

Key words: vestibular disease, dog, cat, BAEP.

RIASSUNTO

Le patologie vestibolari sono forme frequenti nei piccoli animali che possono essere causate da lesioni delle componenti periferiche o centrali del sistema vestibolare. Questo articolo tratta dell'approccio diagnostico a queste patologie, con particolare riferimento all'impiego dei potenziali evocati acustici del tronco encefalico (BAEP). Quindi, gli autori presentano 2 casi clinici nei quali i BAEP si sono rivelati utili ai fini diagnostici e prognostici.

SUMMARY

Vestibular diseases are common conditions in small animals that can be caused by damage to the peripheral or central components of the vestibular system. This article reviews the diagnosis of these diseases, and particularly the use of brainstem auditory-evoked potentials (BAEP). Then, the authors present 2 clinical cases in which BAEP have demonstrated to be useful diagnostic and prognostic tools.

Bibliografia

Bagley R.S.: Vestibular disease of dogs and cats. Kirk's Current Veterinary Therapy XIII, small animal practice, 966-971, 2000.

Dondi M., Bianchi E.: Potenziali evocati uditivi del tronco encefalico (BAER) nel cane e nel gatto. Annali della Facoltà di Medicina Veterinaria dell'Università di Parma, 17, 101-116, 1997.

Fisher A, Obermaier G.: Brainstem auditory-evoked potentials and neuropathologic correlates in 26 dogs with brain tumors. Journal of Veterinary Internal Medicine, 8, 363-369, 1994.

LeCouteur R.A.: Vestibular diseases of cats and dogs. Proceedings of the 27 WSAVA congress, 416-419, 2002.

Oliver J.E., Lorenz M.D., Kornegay J.N. Ataxia of the head and the limbs. In: Handbook of veterinary neurology – 3rd edition. W.B. Saunders, Philadelphia, 1997.

Sorjonen D.C.: Neurologic and otologic disorders of geriatric patients. Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice, 19, 125-135, 1989.

Steiss J.E., Cox N.R., Hathcock J.T.: Brain stem auditory-evoked response abnormalities in 14 dogs with confirmed central nervous system lesions. Journal of Veterinary Internal Medicine, 8, 293-298, 1994.

Thomas W.B.: Vestibular dysfunction. Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice, 30, 227-249, 2000.

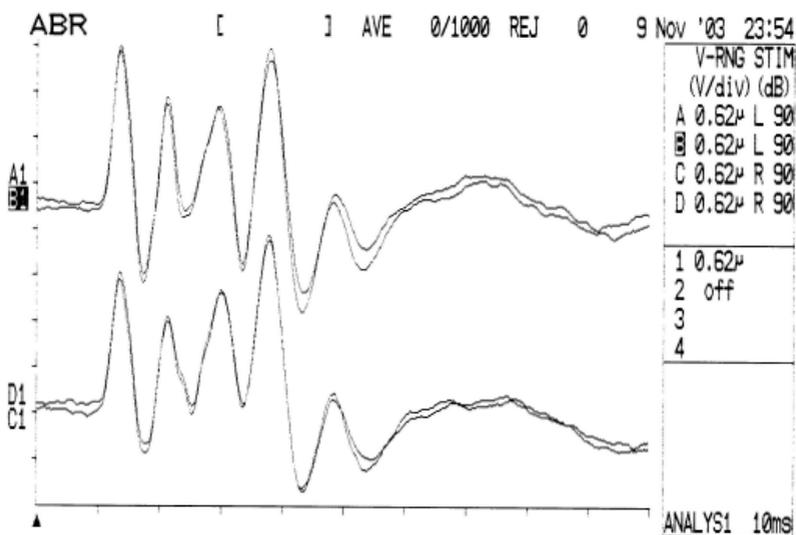


Figura 1 – Esempio di tracciati BAEP registrati in cane normale. Si evidenziano sia a sinistra (tracciati in alto; A1, B1), che a destra (tracciati in basso; C1, D1) le onde di comune interesse clinico (I, II, III, V). Stimolazione alternata, 90 dB NHL. Sono riportate 2 registrazioni per lato. 1 ms/div; 0,62 microV/div.

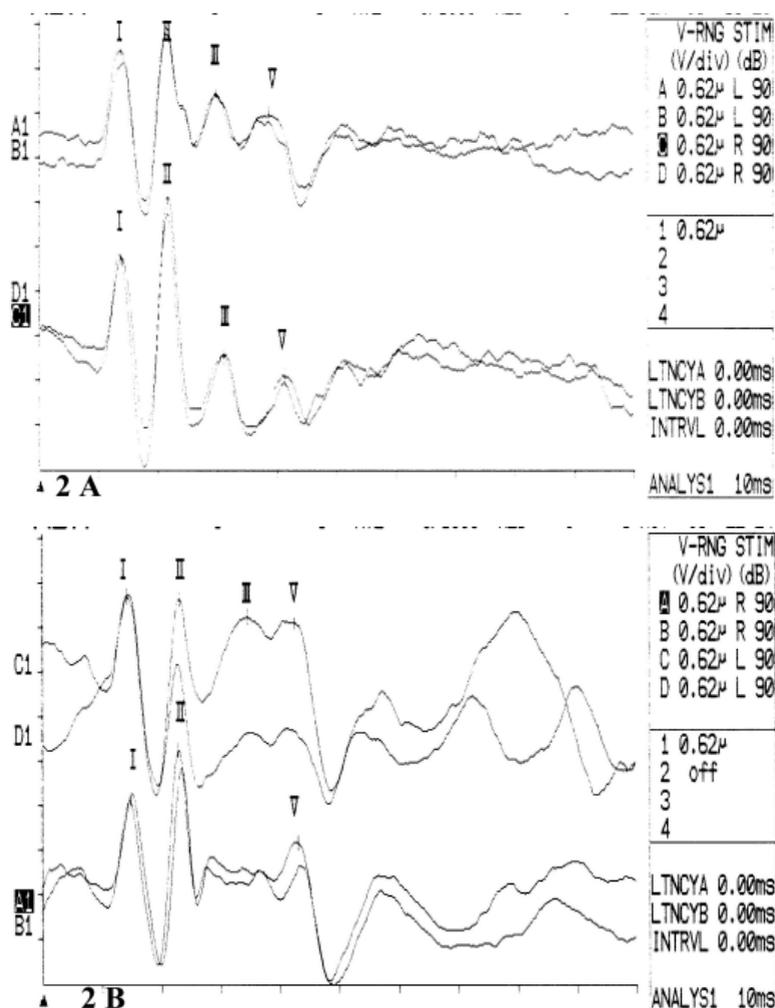


Figura 2 – Caso clinico n. 1. **2A.** Tracciati BAEP registrati alla prima visita, si evidenziano tutte le onde di interesse clinico. Si riscontra un rallentamento della conduzione a destra (tracciati in basso; D1, C1). Le latenze assolute e relative a sn sono: I 1.38, II 2.14, III 2.98, V 3.86, I-III 1.60, III-V 0.88, I-V 2.48; le latenze assolute e relative a dx sono: I 1.38, II 2.16, III 3.10, V 4.12, I-III 1.72, III-V 1.02, I-V 2.74.

2B. Tracciati registrati dopo 7 giorni, che evidenziano alterazioni sia a dx che a sn delle onde III e V. In particolare a dx (tracciati in basso; A1, B1) la III è assente. Le latenze assolute e relative a sn sono: I 1.44, II 2.25, III 3.44, V 4.28, I-III 2.00, III-V 0.84, I-V 2.84; le latenze assolute e relative a dx sono: I 1.50, II 2.29, V 4.34, I-V 2.84. Stimolazione alternata, 90 dB NHL. Sono riportate 2 registrazioni per lato. 1 ms/div; 0,62 microV/div.

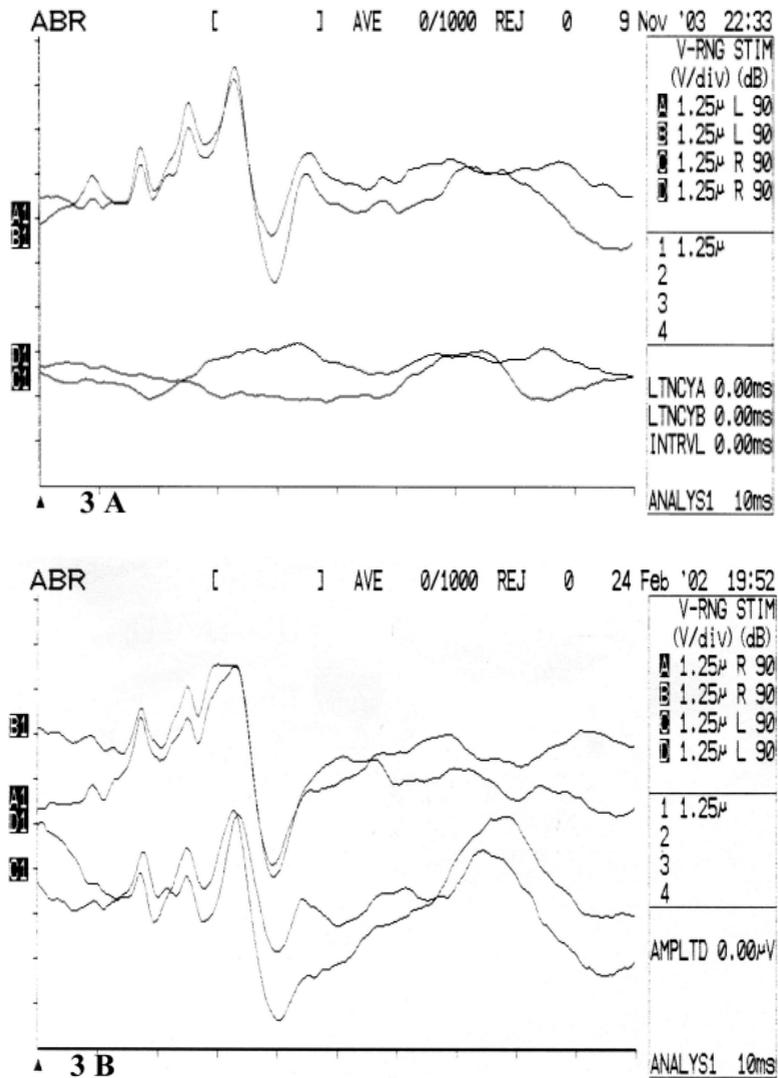


Figura 3 – Caso clinico n. 2. **3A.** Tracciati BAEP registrati alla prima visita. A sinistra (A1, B1) i tracciati si presentano normali, mentre a destra (tracciati in basso, C1, D1) non si evidenzia nessuna onda.

3B. BAEP registrati al controllo, dopo 13 giorni, in cui si evidenziano tracciati normali in tutte e due le orecchie. Stimolazione alternata, 90 dB NHL. Sono riportate 2 registrazioni per lato. 1 ms/div; 0,62 microV/div.

COMPRAVENDITA DI ANIMALI VIVI E MODIFICHE APPORTATE AL CODICE CIVILE DAL D. LVO 2.2.2002, N. 24

Roberto Bernocchi *, Giuseppe Zannetti **
Dipartimento di Salute Animale dell'Università di Parma

Premessa

La recente emanazione di una normativa di recepimento di direttive europee sul commercio dei beni di consumo ha posto immediatamente il problema della sua applicabilità al commercio degli animali vivi. Questi, come è noto, nel nostro ordinamento giuridico non hanno ottenuto ancora una qualifica superiore a quella di *res*, ossia di beni concreti in tutto uguali a quelli inanimati e oggetto di transazioni regolate da norme antiche quanto le civiltà umane.

Il problema non è di poco conto, se si considera che l'applicazione di questa normativa al commercio degli animali imporrebbe un adeguamento dei termini di garanzia, che verrebbero raddoppiati portandoli a due anni, con impressionanti conseguenze sull'attività di quanti traggono il loro reddito dalle produzioni zootecniche e dal loro commercio.

Agli scenari giuridici che si prospettano nel commercio degli animali alla luce della possibile applicazione di questa nuova normativa è dedicata appunto la presente nota.

La normativa in atto nel commercio degli animali vivi

L'art. 1496 del Codice Civile dispone che nella vendita di animali la garanzia per i vizi è regolata dalle leggi speciali o, in mancanza, dagli usi locali, mentre se neppure questi dispongono, si osservano le norme di cui agli articoli precedenti, ossia quelle che disciplinano la garanzia per i vizi della compravendita di cosa comune (artt. 1490 e ss.). In tale ambito, dunque, è prevista una specifica gerarchia delle fonti giuridiche, che vede prevalere le leggi speciali, quindi gli usi e solo residualmente risulta applicabile la disciplina generale codicistica, che evidentemente si applica solo in mancanza delle precedenti discipline o per quegli aspetti eventualmente non previsti dalle stesse¹.

* titolare di borsa di studio post-dottorato presso l'Università di Parma

** professore ordinario di Patologia Medica Veterinaria presso l'Università di Parma

¹ Cfr. in tal senso Cian G. Trabucchi A. Commentario Breve al Codice Civile, Padova 2002 che nel commento all'art. 1496, cita Cass. 69/595, in Giur. Agr. 1969, p. 646 e Greco-Cottino Vendita, Comm. SB, p. 295).

Sinteticamente, la disciplina codicistica prevede che il venditore è tenuto a garantire che la cosa venduta sia immune da vizi che la rendano inidonea all'uso a cui è destinata o ne diminuiscano in modo apprezzabile il valore (art. 1490), che in tali casi il compratore può domandare a sua scelta la risoluzione del contratto (con conseguente restituzione del bene al venditore e del prezzo al compratore, oltre al rimborso delle spese) ovvero la riduzione del prezzo (artt. 1492 e 1493), che in ogni caso il venditore è tenuto al risarcimento del danno se non prova di avere ignorato senza colpa i vizi della cosa (art. 1494).

Inoltre, il diritto alla garanzia viene riconosciuto a condizione che venga esercitato entro l'anno dalla consegna della cosa e purchè il compratore abbia comunicato i vizi al venditore entro 8 giorni dalla scoperta (art. 1495).

Si ritiene applicabile, infine, alla vendita di animali anche la disposizione che riconosce al compratore la risoluzione del contratto allorchè la cosa manchi delle qualità promesse o di quelle essenziali per l'uso cui è destinata (art. 1497), benchè tale disposizione non rientri tra quelle individuate come applicabili dall'art. 1496, che letteralmente richiama soltanto le norme ad esso precedenti².

La suddetta realtà giuridica, rimasta tale e immutata per decenni è stata sconvolta dall'aggiornamento imposto dal D. L. vo 2.2.2002, n. 24, che ha recepito le direttive europee emanate sull'argomento.

In questo modo è stata inserita, all'interno del Codice Civile, agli articoli 1519 bis e seguenti, una specifica disciplina della vendita dei beni di consumo³ (paragrafo 1 bis del libro IV sulle obbligazioni). Detta disciplina, in particolare, è finalizzata a garantire che i beni di consumo stessi siano idonei all'uso, conformi alla descrizione fatta dal venditore, che presentino le qualità del bene che il venditore ha presentato come campione modello, che abbiano le qualità e offrano le prestazioni abituali di un bene dello stesso tipo, che siano idonei all'uso particolare voluto dal consumatore e portato a conoscenza del venditore e da questi accettato (art. 1519 ter).

Tale disciplina, inoltre, specifica che il venditore è responsabile nei confronti del consumatore per qualsiasi difetto di conformità esistente al momento della consegna del bene. In caso di difetto il consumatore ha diritto al ripristino, senza spese, della conformità del bene mediante riparazione o sostituzione oppure ad una riduzione adeguata del prezzo ovvero alla risoluzione del contratto (art. 1519 quater).

La responsabilità del venditore sussiste quando il difetto si manifesta entro due anni dalla consegna, e purchè la comunicazione del vizio di conformità sia stata fatta al venditore entro due mesi dalla sua scoperta (art. 1519 sexies).

² Cfr. in tal senso Cian G. Trabucchi A. Commentario Breve al Codice Civile, Padova 2002 che, nel commento all'art. 1496, riporta il pensiero della prevalente dottrina (Rubino, La Compravendita, Tr CM, 866, Greco-Cottino Vendita, Comm. SB) ma anche il parere contrario espresso dalla Suprema Corte nella pronunzia 62/684.

³ L'introduzione si deve al D.L. vo 2/2/2002 n.24 in attuazione della Direttiva 1999/44/CE del Parlamento Europeo e del Consiglio

Dubbi applicativi e ipotesi interpretative sulla normativa del commercio dei beni di consumo

Alla luce di quanto sopra riferito e relativamente al commercio degli animali vivi, è fondato dunque, il primo dubbio: allorchè non si versi in una ipotesi in cui è applicabile una legge speciale o, eventualmente, usi e consuetudini locali e si debba quindi fare ricorso alla disciplina generale imposta dal Codice Civile, la nuova normativa sulla vendita dei beni di consumo è realmente applicabile?

Tale possibilità consentirebbe, in effetti, al compratore di pretendere anche la riparazione o la sostituzione del bene, nonchè di usufruire di termini più lunghi per la denuncia del difetto e per l'esercizio del diritto.

Il quesito, anche per il fatto che la nuova normativa è di recente emanazione e risultano scarse le soluzioni interpretative di casi concreti, non trova per il momento risposte sicure, ma merita alcune riflessioni di ordine giuridico e professionale.

Ancora prima di esaminare se l'animale vivo possa ritenersi un bene di consumo, l'astratta applicabilità della disciplina in argomento è condizionata dall'affermazione che essa rientri nella previsione di cui al già richiamato art. 1496 C.C. in base al quale "nella vendita di animali la garanzia per i vizi è regolata dalle leggi speciali o, in mancanza dagli usi locali. Se neppure questi dispongono si applicano le norme che precedono".

Per essere applicabile senza indugi al commercio degli animali, la disciplina introdotta da D. Lvo 2.2.2002, n. 24, quindi, dovrebbe considerarsi normativa speciale o quantomeno rientrare tra le norme che precedono la disposizione appena citata. In realtà, si deve escludere che essa possa considerarsi come legge speciale, proprio perchè non regola in alcun modo l'ambito specifico degli animali.

Per contro, si potrebbe ritenere che detta norma possa essere ricompresa nel richiamo alle "norme che precedono", anche se le stesse sono evidentemente collocate *dopo* l'articolo nel quale è inserita tale espressione. Del resto, la normativa sui beni di consumo è stata solo recentemente inserita nel Codice Civile, e quindi il dato letterale di cui all'art. 1496 potrebbe essere superato, anche considerando che l'intenzione del Legislatore pare essere quella di volere richiamare, per disciplinare la garanzia per i vizi, la regolamentazione codicistica in materia di vendita, tra cui, oggi, rientra anche quella specificata nella disciplina in oggetto⁴.

Sulla base dell'interpretazione proposta, dunque, in tema di garanzia per i vizi nella compravendita di animali, la disciplina sulla vendita dei beni di consumo potrebbe, in astratto, essere applicata, residualmente però rispetto alle leggi speciali e agli usi e consuetudini locali⁵, al pari della disciplina codicistica tradizionale.

⁴ Autorevole Dottrina ha risolto entrambi i quesiti nel senso della applicabilità, pur senza motivare la conclusione interpretativa assunta; cfr. Patti, Commentario sulla Vendita dei Beni di Consumo, Milano 2004 p. 47.

⁵ E' solo il caso di ricordare che la disciplina dettata dagli usi incontra il limite del rispetto di norme imperative inderogabili di ordine pubblico e di buon costume, per cui ad esempio si è ritenuto inapplicabile l'uso locale che prevedeva il decorso del termine per la denuncia dei vizi occulti dalla consegna dell'animale anziché dalla scoperta del vizio; cfr. Cass. 599/54.

La sua applicabilità in concreto, però, risulta condizionata ad un ulteriore e più delicato dubbio interpretativo: essendo la disciplina in parola specificamente riservata a tali beni⁶, l'animale vivo può essere concettualmente ritenuto un bene di consumo?

Non dovrebbero sussistere particolari difficoltà a ritenere l'animale vivo un bene, sulla base di una tradizione interpretativa che trova, tra l'altro, solidi agganci positivi, tra cui in particolare l'art. 810 C.C., che definisce beni le cose che possono formare oggetto di diritti e l'art. 923 C.C., che definisce cose mobili suscettibili di occupazione gli animali che formano oggetto di caccia e pesca.

Relativamente al concetto di bene di consumo, alcune considerazioni possono prendere le mosse alle previsioni e intendimenti espressi dal Legislatore nella Direttiva 99/44/CE "Su Taluni Aspetti della Vendita e delle Garanzie dei Beni di Consumo", di cui il D.L.vo 2.2.2002, n. 24 è atto di recepimento.

Compravendita di animali e tutela del consumatore

In dottrina si ritiene che duplice sia l'anima di questo provvedimento comunitario, che si configura per un verso come strumentale alla realizzazione del mercato interno, ma per altro verso appare finalizzato all'introduzione di un livello elevato di protezione dei consumatori, proteggendo e promuovendo il loro interesse a ricevere beni conformi alle previsioni contrattuali, nonché a promuovere il loro diritto all'informazione. Secondo tale orientamento, poi, la materialità del bene sarebbe condizione necessaria e sufficiente affinché un bene mobile possa essere considerato "di consumo", anche perchè nel testo stesso della direttiva in questione mancano elementi che giustifichino l'attribuzione di una specifica valenza contenutistica e conseguentemente di una portata limitativa alla qualificazione "di consumo". Come testualmente risulta dall'art. 1 par. 2 lett. b della citata Direttiva, qualsiasi bene mobile materiale - secondo questa interpretazione - è dunque bene di consumo, quale ne siano il valore economico, la destinazione e le caratteristiche (in particolare la maggiore o minore attitudine a durare nel tempo) e a prescindere dalla circostanza che si tratti di beni nuovi o usati: in questa prospettiva, dunque, tutti i beni mobili materiali sarebbero da ritenersi beni di consumo⁷.

Tale assunto risulterebbe poi confermato, a parere degli stessi AA., dalla normativa di recepimento, in particolare dall'articolo 1519 bis del Codice Civile che, al comma secondo, lettera b), definisce "bene di consumo" qualsiasi bene mobile,

⁶ L'art.1519 bis C.C. contiene una serie di definizioni, dalle quali è possibile ricavare, innanzi tutto, l'estensione dell'ambito di applicazione delle disposizioni contenute nel paragrafo 1 bis: in primo luogo vengono infatti individuati i tipi contrattuali suscettibili di essere ricompresi nel campo di operatività della nuova disciplina e, in secondo luogo, vengono poste, a tale campo, limitazioni di tipo soggettivo (la nuova disciplina si applica solo ai contratti che siano stati conclusi da un consumatore con un professionista) e oggettivo (la nuova disciplina riguarda solo i contratti che si riferiscano a beni di consumo). Così Cian G. Trabucchi A. Commentario Breve al Codice Civile, Padova 2002 nel commento all'art. 1519 bis.

⁷ Cfr. De Cristofaro G., Difetti di Conformità al Contratto e Diritti del Consumatore, Padova 2000 p. 4 e ss. e 42 e ss..

anche da assemblare, ad eccezione di quelli oggetto di vendita forzata, l'acqua e il gas (se non confezionati per la vendita) e l'energia elettrica. Stante il tenore letterale appena richiamato, le nuove norme si applicherebbero, dunque, alla fornitura di qualsiasi tipo di bene fungibile o infungibile (e, quindi, sostituibile o meno da altro di identica utilità), consumabile o non consumabile (e, quindi, tale da esaurire la propria utilità in un'unica soluzione, perché l'uso la distrugge come nel caso degli alimenti o, al contrario, suscettibile di un godimento ripetuto nel tempo), generico o specifico (e, quindi, indicato solamente nel genere ovvero già scelto e, perciò, distinto dagli altri dello stesso genere), esistente o non ancora esistente⁸.

Tale interpretazione pare però legata al mero dato letterale della normativa, mentre, a giudizio di chi scrive, si dovrebbe considerare in particolare l'intenzione del Legislatore in relazione agli obiettivi che Questi si è prefisso di raggiungere con la disciplina emanata.

Come si è detto riprendendo quanto specificato nella Direttiva che ne costituisce il presupposto ed il fondamento, è evidente lo scopo del Legislatore di garantire un elevato livello di protezione dei consumatori, dove per consumatore si intende, come è specificato nel secondo comma, lettera a, dell'art. 1519 bis, qualsiasi persona fisica che agisce per scopi estranei all'attività imprenditoriale o professionale eventualmente svolta nel rapporto con un venditore che, al contrario, esercita imprenditorialmente o professionalmente l'attività. In detta normativa, dunque, il rapporto commerciale è inteso come quello che si instaura tra un soggetto forte e competente (il venditore) ed uno debole ed incompetente (il consumatore), come accade soprattutto nello scambio di prodotti industriali realizzati su larga scala, nonchè di comune e generalizzato utilizzo.

Si può desumere, quindi, che i prodotti di consumo cui si riferisce la disciplina in discussione sono in particolare quelli fabbricati in serie, secondo criteri comuni o standard, che ben si attagliano all'utenza indifferenziata (mercato dei consumatori) cui sono destinati. Argomentando a contrario, invece, non sarebbero ricompresi nella categoria dei beni di consumo quelli di fattura prettamente artigianale, realizzati secondo capacità individuali proprie del costruttore e in modo tale che il bene costituisca un *unicum* non raffrontabile con altri beni dello stesso tipo e, quindi, per queste stesse caratteristiche non destinati ad una utenza di massa⁹.

Altri argomenti confortano la tesi sopra proposta: in primo luogo, secondo l'art. 1519 ter C.C., si presume che i beni di consumo siano conformi al contratto quando coesistono circostanze diverse, come l'idoneità all'uso al quale servono abitualmente beni dello stesso tipo, il possesso di qualità appartenenti al campione presentato al consumatore, le caratteristiche abituali di un bene dello stesso tipo, ecc..

Da quanto discusso finora si può desumere che la legge in questione si riferisca a beni con caratteristiche standard, confrontabili con un modello predeterminato e

⁸ Cfr. De Cristofaro G., Difetti di Conformità al Contratto e Diritti del Consumatore, Padova 2000 p. 25 e ss..

⁹ Cfr. sul punto Patti, Commentario sulla Vendita dei Beni di Consumo, Milano 2004 p. 32 e ss.

comunque riproducibile.

Del resto, tra i rimedi principalmente e incondizionatamente previsti a vantaggio del consumatore che abbia ricevuto un bene non conforme, l'art. 1519 quater prevede anche la sostituzione del bene contestato, facendo presumere che il riferimento astratto del Legislatore sia rivolto proprio ad un bene che per sua natura è intercambiabile con un altro già disponibile e pressochè identico.

Si potrebbe ritenere, dunque, che i beni di consumo oggetto della disciplina in questione abbiano come caratteristica peculiare proprio la fungibilità e quindi la sostituibilità, mentre sfuggirebbero al suo campo di applicazione quelli caratterizzati da elementi propri peculiari o individualizzanti, che risultano in concreto non facilmente ripetibili attraverso procedimenti industriali o, comunque, non ottenibili attraverso operazioni che garantiscano sempre il medesimo risultato.

Sulla scorta delle considerazioni fin qui proposte, si potrebbe ipotizzare, dunque, che l'animale vivo può essere considerato un bene di consumo solamente quando può essere prodotto in serie con le caratteristiche che lo rendono appetibile al mercato cui è destinato in relazione alla sua specifica destinazione.

Questa condizione è ipotizzabile quasi esclusivamente per beni le cui peculiarità possono essere indotte con procedimenti e risultati predeterminati, tanto che il bene-animale risulti facilmente sostituibile con altro esemplare identico.

In questa prospettiva, dunque, la compravendita di un animale pronto per la macellazione, relativamente alla garanzia dei vizi, potrebbe essere regolata ai sensi della disciplina sui beni di consumo, in quanto la scelta di un esemplare piuttosto che di un altro è condizionata semplicemente da caratteristiche fisiche del tutto comuni e obiettivamente quantificabili, come il peso corporeo, la resa e la qualità stessa della carne. L'assenza di particolari elementi individualizzanti porta a ritenere possibile, inoltre, la facile sostituibilità dell'esemplare contestato con altro uguale e privo del vizio redibitorio. In questo stesso spirito, del resto, una recente sentenza del Pretore di Cremona ha sancito l'improponibilità dell'azione redibitoria per un cane da compagnia affetto da vizio fisico che ne potrebbe limitare l'impiego come animale da lavoro e come riproduttore, se lo stesso è allevato per scopi realmente "da compagnia", per l'espletamento de quali la presenza del vizio è ininfluenza.

Ben diversa potrebbe essere, invece, la situazione, solo apparentemente analoga, che coinvolge un cane da mostra di bellezza o un cavallo da corsa e acquisiti proprio per queste finalità, le cui caratteristiche, non solo fisiche ma anche psicocaratteriali, nonché la loro trasmissibilità alla progenie, sono sicuramente proprie del soggetto scelto e non sono facilmente riproducibili o rinvenibili in altro esemplare della stessa razza o attitudine.

Considerazioni conclusive

In conclusione, quanto fin qui detto potrebbe essere così riassunto:

la garanzia per i vizi nella compravendita di animali è regolata dalle leggi speciali, o in mancanza dagli usi locali e, se neppure questi dispongono, dalle norme

del codice civile e quindi anche da quelle relative alla vendita di beni di consumo¹⁰.

L'evoluzione più recente di tale ultima disciplina, oggetto della presente nota, però, pare applicabile (a giudizio di chi scrive) soltanto nel caso in cui l'animale "non conforme" sia da ritenere, per le sue peculiari caratteristiche produttive e/o commerciali, sostituibile e non invece connotato da peculiarità individualizzanti specifiche, comunque non facilmente riproducibili o comunemente rinvenibili, come nelle situazioni precedentemente ipotizzate del cane da mostra e del cavallo da corsa..

Inoltre, la conformità che viene garantita nella vendita di un bene di consumo, secondo la predetta normativa, deve essere tale in confronto ad un modello quantomeno ipotetico, le cui caratteristiche siano ottenibili attraverso un procedimento predeterminato.

Altra condizione per l'applicabilità di tale disciplina è che il rapporto di vendita sia intervenuto tra un soggetto professionale e un soggetto privato non professionale, situazione ben specificata nel D. L.vo 2.2.2002, n. 24, e che giustifica l'impegno e il target primario della stessa di tutelare soprattutto la componente-consumatore, ritenuta appunto la più debole.

Da questi limiti di applicabilità della norma in oggetto al commercio degli animali vivi scaturiscono ulteriori motivi di dubbio, in ordine, in particolare, alla compravendita di animali con caratteristiche commerciali (per rendimento sportivo, produttivo, ecc.) peculiari e difficilmente ripetibili in tempi e spazi circoscritti,

In dette transazioni commerciali, inoltre, è spesso arduo riconoscere *a priori* nell'acquirente-consumatore l'"anello debole" del contratto!

Si tratta di condizioni che rendono problematica l'applicazione di questa nuova normativa sul commercio alla compravendita degli animali, soprattutto in assenza di indicazioni operative, che potrebbero essere apportate solo da ulteriori dispositivi chiarificatori o applicativi ovvero da sentenze su casi concreti e specifici, che ne definiscano sotto il profilo speculativo e applicativo le peculiarità e i limiti di impiego nella pratica professionale e commerciale.

Parole-chiave: commercio degli animali, normativa comunitaria, beni di consumo

Riassunto: Gli AA. Considerano le prospettive e i limiti di applicabilità della normativa comunitaria recepita con il D. L.vo 24/2002 sul commercio degli animali vivi, rilevandone le difficoltà di impiego in assenza di ulteriori dispositivi normativi e giuridici.

Resumé: Les AA discutent les perspectives et les limites de l'application des normes nationales et communaires sur le commerce des animaux vifs, dont

¹⁰ Solo per completezza si ricorda che alcuni vizi dell'animale rendono la vendita nulla. In particolare il Regolamento di Polizia Veterinaria (D.P.R. 8/2/1954 n. 320) prevede che non possa essere venduto un animale affetto da una delle malattie infettive e contagiose elencate all'articolo 1 e di conseguenza la vendita stipulata contravvenendo a tale divieto deve considerarsi nulla per illiceità dell'oggetto; cfr. Cass. 72/1782 e Cass. 81/4221.

ils soulignent les difficultés d'application en absence d'ulterieurs eclairissement legislatives et juridiques.

Summary: The AA. discusse the perspectives and the limitations for the applications of the Italian and UE .laws about the commerce of living animals and emphasize the problems in their use in the commercial practice during the actual deficiency of legislative e legal decisions.

IL CONCETTO DI SICUREZZA ALIMENTARE ALLA LUCE DELLA VIGENTE NORMATIVA COMUNITARIA

Signorini G.¹, Biagi G.², Nannipieri S.³, Pandolfi C.⁴

Introduzione

Le norme relative alla sicurezza alimentare, emanate dall'Unione europea, sono, nelle mani del veterinario, strumenti giuridici indispensabili per il conseguimento degli obiettivi previsti dal Libro Verde sulla sicurezza degli alimenti del 1997, passando per il Libro Bianco del 2000 che prevede misure per "un piano d'azione sulla sicurezza alimentare", per finire al Regolamento (CE) n. 178/2002 del 28 gennaio 2002, "che stabilisce i principi e i requisiti generali della legislazione alimentare, istituisce l'Autorità europea per la sicurezza alimentare e fissa procedure nel campo della sicurezza alimentare".

La legislazione alimentare persegue gli obiettivi generali di un livello elevato di tutela della vita e della salute umana, della tutela degli interessi dei consumatori, comprese le pratiche leali nel commercio alimentare, tenendo anche conto della tutela della salute e del benessere degli animali, della salute vegetale e dell'ambiente. Le peculiarità relative alla sicurezza alimentare riguardano tutte le fasi della produzione, della trasformazione e della distribuzione degli alimenti e prendono anche in considerazione i mangimi prodotti per gli animali destinati alla produzione di alimenti per l'alimentazione umana. In tale ottica vengono valutati alcuni punti nodali con particolare attenzione alla ricerca, alle buone pratiche di produzione, alla salubrità, genuinità e qualità degli alimenti, alla tracciabilità e alla rintracciabilità dei prodotti. In tale contesto per garantire la sicurezza degli alimenti occorre valutare tutti gli aspetti della catena di produzione alimentare come un unico processo, a partire dalla produzione primaria passando, per la produzione di mangimi fino alla vendita o erogazione di alimenti al consumatore.

Compiti della Autorità europea della sicurezza alimentare.

Dal 2003 Parma è sede dell'European Food Safety Agency, l'Agenzia Europea della Sicurezza Alimentare, con lo scopo specifico di individuare i sistemi di gestione e prevenzione dei rischi alimentari, l'informazione e l'allarme in caso di crisi alimentare, di promuovere il coordinamento dei comitati nazionali, di fornire

¹ Scuola di Specializzazione in "Diritto e Legislazione Veterinaria" – Università Studi Parma

² Dipartimento di Clinica Veterinaria – Università Studi Pisa

³ Veterinario Dirigente – ASL 6 Zona di Livorno

⁴ Libero professionista – Ancona

pareri scientifici al legislatore comunitario. Alla realizzazione di tali obiettivi concorrono particolari “strumenti” rappresentati dai gruppi di ricerca, ognuno dei quali ha specifiche competenze nel settore degli additivi alimentari e aromi, degli additivi utilizzati nella alimentazione animale, dei prodotti farmacologicamente attivi impiegati negli animali da reddito, dei prodotti fitofarmaceutici e relativi residui, degli OGM, dei rischi biologici, della rilevazione di eventi contaminanti nella catena alimentare, della salute e del benessere animale. In sintesi, all’Agenzia sono assegnate specifiche competenze concernenti i sistemi di gestione/prevenzione dei rischi ed il monitoraggio degli eventuali fattori in grado di determinare l’insorgenza di un rischio in materia alimentare.

Stato dell’arte.

I riferimenti legislativi predisposti negli ultimi anni dal legislatore comunitario a garanzia della sicurezza alimentare (si tratta essenzialmente di ben 17 direttive recepite nel nostro Paese con Decreti Legislativi di natura verticale, per le singole produzioni, e di natura orizzontale) vengono abrogati e sostituiti da cinque Regolamenti che dovranno essere applicati a partire dal 1° gennaio 2006. Il Parlamento Europeo ed il Consiglio in data 29 aprile 2004 ha già emanato quattro di questi Regolamenti che sono stati pubblicati sulla GUCE n. L 139 del 30 aprile 2004. Specificatamente si tratta del Regolamento n. 852/2004/CE, “sull’igiene dei prodotti alimentari”; del n. 853/2004/CE, che “stabilisce norme specifiche in materia di igiene per gli alimenti di origine animale”; del n. 854/2004/CE, che “stabilisce norme specifiche per l’organizzazione di controlli ufficiali sui prodotti di origine animale destinati al consumo umano”; del n. 882/2004/CE, “relativo ai controlli ufficiali intesi a verificare la conformità alla normativa in materia di mangimi e di alimenti e alle norme sulla salute e sul benessere degli animali”.

I settori di intervento riguardano pertanto quanto fissato dal Regolamento base di inquadramento generale, il n. 178/2002/CE, e cioè l’igiene dei prodotti alimentari, gli alimenti di origine animale, i controlli ufficiali sui prodotti di origine animale, la produzione e la conformità alla normativa di mangimi destinati agli animali, il benessere animale. Le misure imposte dalla UE nel nuovo quadro giuridico, finalizzate al più alto livello di protezione della salute, oltre a prendere in considerazione la responsabilità dei fornitori di materie prime, allevatori e produttori di mangimi, fanno obbligo agli operatori del settore alimentare (industrie e distributori) di tenere sotto costante controllo ogni anello delle fasi produttive (sezionamento, trasformazione e distribuzione, con particolare attenzione alle temperature e soprattutto alle possibili contaminazioni da parte di entità biotiche e abiotiche), di avere la possibilità di rintracciare i prodotti lungo tutta la catena alimentare avvalendosi del principio di precauzione per evitare o limitare i danni di eventuali emergenze sanitarie, di garantire la sicurezza e la qualità dei mangimi e di fornire, infine, una idonea informazione agli utenti. La politica alimentare dell’UE impone l’applicazione delle tre componenti dell’analisi del rischio: la percezione e la valutazione del rischio (mediante controlli, analisi e consulenze scientifiche), la gestione del rischio

e la comunicazione del rischio.

Ai sensi dell'art. 14 del Regolamento n. 178/2002/CE, allorquando vengono fissati i requisiti di sicurezza degli alimenti, si statuisce altresì che gli alimenti a rischio non possono essere immessi sul mercato definendo genericamente a rischio "gli alimenti dannosi per la salute e inadatti per il consumo umano". Per determinare se un alimento sia a rischio o meno occorre prendere in considerazione le condizioni d'uso normali dell'alimento da parte del consumatore in ciascuna fase della produzione e le informazioni messe a disposizione del consumatore, comprese le informazioni riportate sull'etichetta od altre informazioni genericamente accessibili al consumatore sul modo di evitare specifici effetti nocivi per la salute provocati da un alimento o categoria di alimenti. Se un alimento a rischio fa parte di una partita, lotto o consegna di alimenti della stessa classe o descrizione, si presume che tutti gli alimenti contenuti in quella partita, lotto o consegna siano a rischio, a meno che, a seguito di una valutazione approfondita, risulti infondato ritenere che il resto della partita, lotto o consegna sia rischio.

Sicurezza degli alimenti di origine animale (o.a.).

Il legislatore comunitario, conscio che alcuni prodotti alimentari di o.a. possono presentare rischi specifici per la salute umana, con la emanazione del Regolamento n. 853/2004/CE ha inteso stabilire norme generali di igiene per gli operatori del settore alimentare finalizzate a garantire la sicurezza dei prodotti di o.a.. Sono stabiliti principi comuni che fanno specifico riferimento alle responsabilità dei produttori e delle autorità competenti, ai requisiti strutturali, operativi e igienici degli stabilimenti, alle procedure di riconoscimento degli stabilimenti, ai requisiti per il magazzino ed il trasporto ed ai bolli sanitari. Tali principi costituiscono il fondamento di una produzione degli alimenti di o.a. in condizioni ottimali di igiene e consentono la semplificazione della normativa esistente.

In sintesi si può concludere che i requisiti previsti dal Regolamento n. 853/2004/CE, costituito da trenta "considerando", quindici articoli e tre allegati, impongono agli operatori del settore alimentare di intervenire in qualsiasi fase della produzione, trasformazione e distribuzione degli alimenti mediante l'istituzione, l'applicazione e il mantenimento di procedure basate sui principi del sistema di analisi dei pericoli e dei punti critici di controllo (HACCP).

Obblighi degli operatori del settore alimentare sanciti dal Regolamento n. 853/2004/CE

Dopo le disposizioni generali relative al campo di applicazione, il Capitolo II, art. 3, stabilisce che gli operatori del settore alimentare devono rispettare le pertinenti disposizioni degli Allegati II (requisiti concernenti diversi prodotti di o.a.) e III (requisiti specifici riguardanti i diversi settori e le varie fasi della lavorazione, magazzino, trasporto dei prodotti) e con l'art. 5 detta gli obblighi degli operatori del

settore alimentare che possono immettere sul mercato un prodotto di o.a. manipolato in uno stabilimento soggetto al riconoscimento (art. 4, paragrafo 2) solo se questo è contrassegnato o da un bollo sanitario (Regolamento n. 854/2004/CE) o, qualora l'applicazione di un bollo sanitario non sia prevista, da un marchio di identificazione (Regolamento n. 853/2004/CE, Allegato II, sezione I); con l'art. 6 prende in considerazione i prodotti di o.a. di provenienza esterna dalla Comunità e prevede i requisiti necessari affinché l'importazione possa avvenire.

Particolarmente interessante il contenuto degli allegati che abbracciano tutta la materia relativa alla produzione alimentare. Il primo allegato si limita ad elencare le definizioni di carni, molluschi bivalvi vivi, prodotti della pesca, latte, uova, cosce di rana e lumache, prodotti trasformati oltre a definire altri prodotti di o.a. quali alimenti come il miele, il sangue; molluschi bivalvi vivi, echinodermi vivi, tunicati vivi e gasteropodi marini vivi destinati al consumo umano; altri animali destinati ad essere forniti vivi al consumatore finale che vanno trattati conformemente a tale indirizzo. Viene data anche la definizione di mercato all'ingrosso intesa come azienda del settore alimentare comprendente varie unità separate che hanno in comune impianti e sezioni in cui i prodotti alimentari sono venduti agli operatori del settore alimentare. Il secondo Allegato, che fissa i "requisiti concernenti i diversi prodotti di o.a.", a norma dell'art. 5 o 6, e fatte salve le disposizioni di cui all'Allegato III, fissa i criteri relativi alla bollatura sanitaria e alla marchiatura di identificazione. Tale marchio indicante il nome del paese in cui è situato lo stabilimento, deve essere leggibile e indelebile con caratteri facilmente decifrabili e apposto prima che il prodotto lasci lo stabilimento. Gli operatori del settore alimentare che gestiscono i macelli sono garanti che ogni animale o lotto di animali sia adeguatamente identificato, accompagnato dalle opportune informazioni fornite dall'azienda di provenienza, introdotti da zone non soggette a divieto di movimento, siano sani e in condizioni soddisfacenti di benessere al momento dell'arrivo nel macello. Si prevede inoltre che gli operatori che gestiscono i macelli debbano controllare le informazioni sulla catena alimentare con particolare riguardo allo status sanitario dell'azienda di provenienza o del territorio regionale, le condizioni di salute degli animali, i trattamenti farmacologici cui sono stati sottoposti gli animali, le date delle somministrazioni e i tempi di sospensione, le pertinenti relazioni relative alle ispezioni ante e post mortem sugli animali delle stesse aziende di provenienza, comprese in particolare le relazioni del veterinario ufficiale, i dati relativi alla produzione quali indicatori di presenza di patologie ed infine nome e indirizzo del veterinario privato che di norma assiste l'azienda di provenienza.

Requisiti specifici previsti dall'Allegato III del Regolamento n. 853/2004/CE.

I prodotti di o.a. vengono raggruppati in quindici Sezioni, ognuna delle quali è suddivisa in capitoli. La prima Sezione attiene alle carni di ungulati domestici con particolare riguardo al trasporto al macello degli animali vivi che devono essere manipolati con cura evitando inutili sofferenze; ai requisiti relativi ai macelli che devono essere dotati, oltre che di un congruo numero di locali adibiti a tutte le operazioni che

evitino la contaminazione delle carni, anche di stalle di sosta adeguate e conformi alle norme d'igiene o, se il clima lo permette, recinti di attesa facili da pulire e da disinfettare, attrezzati con strutture, la cui disposizione deve essere tale da facilitare le ispezioni ante mortem, l'identificazione degli animali o dei gruppi di animali, destinate ad ospitare animali ammalati o sospetti, con abbeveratoi e, se necessario, mangiatoie, di dimensioni tali da garantire il rispetto del benessere degli animali; ai laboratori di sezionamento che devono essere costruiti in modo da evitare la contaminazione delle carni consentendo il costante avanzamento delle operazioni o garantendo una separazione nella lavorazione dei diversi lotti di produzione e disponendo di locali per il magazzinaggio separato di carni confezionate e non confezionate; all'igiene della macellazione che deve essere effettuata senza indebito ritardo anche se, ove richiesto per motivi di benessere, può essere concesso agli animali un periodo di riposo. Viene presa inoltre in considerazione l'igiene durante le operazioni di sezionamento e disosso, la macellazione d'urgenza al di fuori del macello, il magazzinaggio e il trasporto delle carni.

La seconda Sezione riguarda le carni di pollame e di lagomorfi richiamando gli operatori del settore a particolari attenzioni per il trasporto degli animali vivi per quanto concerne il benessere e alle caratteristiche dei macelli, all'igiene della macellazione e alle operazioni di sezionamento e di disosso per evitare eventuali possibili contaminazioni delle carni. Si fa pure un accenno alla macellazione in azienda specificando modalità e tempi di operazione per il recupero delle carni. La terza Sezione riguarda la selvaggina d'allevamento, mentre la quarta Sezione detta norme per la selvaggina selvatica e stabilisce che le persone che cacciano selvaggina selvatica al fine di commercializzarla per il consumo umano devono disporre di sufficienti nozioni in materia di patologie della selvaggina e di produzione e trattamento della selvaggina e delle carni di selvaggina dopo la caccia per poter eseguire un esame preliminare della selvaggina stessa sul posto introducendo in tal modo una nuova figura, quella della "persona formata" che deve aver seguito dei corsi di formazione per cacciatori in materia di igiene e sanità e che potrebbe anche essere identificata con il responsabile di una riserva venatoria o un allevatore di selvaggina, se fanno parte del gruppo di cacciatori o si trovano nelle immediate vicinanze del luogo in cui avviene la caccia. Vengono inoltre dettate disposizioni per il trattamento della selvaggina selvatica grossa e per quella piccola.

La quinta Sezione s'interessa delle carni macinate, preparazioni di carni e carni separate meccanicamente (CSM) stabilendo i requisiti degli stabilimenti di produzione, i requisiti delle materie prime, l'igiene durante e dopo la produzione e l'etichettatura. La sesta Sezione fa specifico riferimento ai prodotti a base di carne elencando gli organi e tessuti che non possono essere utilizzati per la loro preparazione.

I molluschi bivalvi vivi sono l'oggetto della settima Sezione e specifica i requisiti generali per l'immissione sul mercato dei molluschi bivalvi vivi, i requisiti per la raccolta e il successivo trattamento e per la stabulazione, i requisiti per i centri di depurazione e di spedizione, le norme sanitarie previste con specifico riferimento ai limiti fissati per le biotossine marine: PSP (Paralytic Shellfish Poison) ($800 \mu\text{g}/\text{kg}$); APS (Amnesic Shellfish Poison) ($20 \text{ mg}/\text{kg}$ di acido domoico); acido okadaico, dimophysitossine e pectenotossine complessivamente ($160 \mu\text{g}$ di equivalente acido

okadaico/kg); yessotossine (1 mg di equivalente yessotossine/kg); azaspiracidi (160 μ g di equivalente azaspiracido/kg). Vengono inoltre date disposizioni per l'etichettatura e la marchiatura di identificazione. Viene fatto anche un accenno ai requisiti specifici per i pettinidi raccolti fuori dalle zone di produzione classificate. L'ottava Sezione considera i prodotti della pesca fissando i requisiti applicabili alle navi con particolare riguardo agli aspetti igienici durante e dopo le operazioni di sbarco, agli stabilimenti e alle operazioni di decapitazione ed eviscerazione. Sono infine accennati gli obblighi previsti per i prodotti della pesca separati meccanicamente, le norme sanitarie, quelli relativi ai parassiti ed i requisiti per i prodotti della pesca trasformati. Particolare interesse il legislatore riserva alle operazioni di confezionamento, imballaggio, conservazione e trasporto dei prodotti della pesca.

Latte crudo e prodotti lattiero-caseari trasformati costituiscono l'oggetto della nona Sezione. Vengono presi in considerazione i requisiti sanitari per la produzione di latte crudo con speciale riguardo allo stato sanitario degli animali che non devono presentare sintomi di malattie infettive trasmissibili all'uomo; che denotano uno stato sanitario generale buono e non evidenziano sintomi di malattie che possano comportare una contaminazione del latte e, in particolare, non sono affetti da infezioni del tratto genitale con scolo, enteriti con diarrea accompagnate da febbre, o infiammazioni individuabili della mammella; che non sono affetti da ulcerazioni della mammella tali da poter alterare il latte; inoltre agli animali non devono essere stati somministrati sostanze o prodotti non autorizzati, ovvero che non sono stati oggetto di un trattamento illecito ai sensi della direttiva 96/23/CE e per i quali, in caso di somministrazione di prodotti o sostanze autorizzati, siano stati rispettati i tempi di sospensione prescritti per tali prodotti o sostanze. Per quanto riguarda la brucellosi e la tubercolosi, si ribadisce che il latte crudo deve provenire da allevamenti indenni o ufficialmente indenni (vacche o bufale, ai sensi della direttiva 64/432/CEE; pecore o capre, ai sensi della direttiva 91/68/CEE). Viene presa in considerazione anche l'igiene nelle aziende produttrici di latte, l'igiene della mungitura, raccolta e trasporto del latte con riguardo alla catena del freddo, l'igiene del personale, le garanzie richieste per il latte di vacca crudo (tenore di germi a 30° C/ml e di cellule somatiche/ml) e per il latte crudo proveniente da altre specie animali (tenore di germi a 30°/ml). Per i prodotti lattiero-caseari i requisiti riguardano la temperatura, il trattamento termico, il confezionamento e l'imballaggio, l'etichettatura, la marchiatura di identificazione.

La decima Sezione si interessa delle uova e degli ovoprodotti prendendo in considerazione per questi ultimi i requisiti relativi agli stabilimenti, alle materie prime impiegate ed alle modalità delle operazioni utilizzate in modo da evitare qualsiasi contaminazione durante la produzione, la manipolazione ed il magazzinaggio, alle caratteristiche analitiche, all'etichettatura ed alla marchiatura di identificazione. Cosce di rana e lumache sono materia normata nella Sezione undicesima in cui si prevede la macellazione in stabilimenti costruiti, sistemati e attrezzati a tal fine stabilendo inoltre che rane e lumache devono essere oggetto di un esame organolettico effettuato per campionamento. Di competenza della Sezione dodicesima sono i grassi fusi di origine animale e i ciccioli dei quali elenca le caratteristiche delle materie prime, la provenienza, il trasporto e modalità di magazzinaggio. La tredicesima Sezione prescrive gli obblighi per gli operatori che trattano gli stomaci, le vesciche

e gli intestini trattati e stabilisce che tali visceri possono essere immessi sul mercato soltanto se provengono da animali macellati in un macello e dichiarati idonei per il consumo umano a seguito di una ispezione ante e post mortem, dopo essere stati salati, riscaldati o essiccati dopo aver preso misure adeguate per impedire la ricontaminazione; non possono essere conservati a temperatura ambiente e devono essere immagazzinati refrigerati, utilizzando impianti previsti a tale scopo, fino al momento della spedizione.

La quattordicesima Sezione riguarda la produzione di gelatina e tra i requisiti previsti stabilisce che per la produzione di gelatina destinata alla utilizzazione negli alimenti possono essere impiegate le seguenti materie prime: ossa, pelli di ruminanti d'allevamento, pelli di suini, pelle di pollame, tendini e legamenti, pelli di selvaggina selvatica, pelle e spine di pesce. Non possono essere utilizzate pelli sottoposte a processi di concia, cioè al processo di indurimento delle pelli, mediante agenti concianti vegetali, sali di cromo o altre sostanze come sali di alluminio, sali di ferro, sali di silicio, aldeidi o chinoni o altri agenti indurenti sintetici. La materia prima deve provenire da animali nati, allevati o macellati in paesi o regioni classificati con una bassa incidenza di BSE e per il trasporto. I produttori devono garantire inoltre che la gelatina rispetti i seguenti limiti fissati per i residui: As (1 ppm), Pb (5 ppm), Cd (0,5 ppm), Hg (0,15 ppm), Cr (10 ppm), Cu (30 ppm), Zn (50 ppm), SO₂ (Reith Williams) (50 ppm), H₂O₂ (Farmacopea europea, 1986 – V₂O₂) (10 ppm).

La Sezione quindicesima disciplina la produzione del collagene destinato alla utilizzazione negli alimenti individuando come materie prime, provenienti da animali macellati in un macello e le cui carcasse sono risultate idonee al consumo umano, le pelli di ruminanti di allevamento, le pelli e ossa di suini, la pelle e ossa di pollame, i tendini, le pelli di selvaggina selvatica, la pelle e le spine di pesce. Anche per la produzione di collagene è vietato l'utilizzo di pelli sottoposte a processi di concia. I centri di raccolta e le concerie possono fornire materie prime per la produzione di collagene destinato al consumo umano se l'autorità competente li autorizza in modo specifico. Le materie prime devono essere trasportate e conservate allo stato refrigerato o congelato a meno che siano lavorate entro 24 ore dalla partenza. Per il trasporto le materie prime devono essere da un marchio di identificazione o in sostituzione da un documento che indichi lo stabilimento di origine e contenga le previste informazioni richieste. I produttori devono garantire inoltre che il collagene rispetti i limiti fissati per i residui che sono gli stessi fissati per la gelatina.

Considerazioni conclusive

Il pur breve excursus con cui abbiamo esaminato il dettato del Regolamento n. 853/2004/CE ci suggerisce alcune essenziali valutazioni. Innanzitutto la libera circolazione di alimenti sicuri e sani rappresenta un aspetto fondamentale del mercato interno e contribuisce, come sancito dal Regolamento n. 178/2002/CE, in modo significativo alla salute e al benessere dei cittadini, nonché ai loro interessi sociali ed economici. Noti sono gli stretti rapporti tra benessere e salute degli animali e sicurez-

za degli alimenti di o.a. prodotti e destinati all'uomo, e quindi particolare attenzione deve essere riservata ai fattori in grado di interagire con il benessere degli animali, in particolare la loro alimentazione tanto che la legislazione alimentare include tra i requisiti previsti anche quelli relativi alla produzione, trasformazione, trasporto, distribuzione e utilizzo dei mangimi. Sono state adottate disposizioni specifiche finalizzate a garantire che gli alimenti a rischio non vengano immessi sul mercato, ed è stato valutato anche l'aspetto che comprende la produzione di animali che potrebbero a loro volta essere impiegati come mangimi negli allevamenti di pesci, dal momento che contaminazioni accidentali o intenzionali dei mangimi, adulterazioni o pratiche fraudolente possono avere una incidenza diretta o indiretta sulla sicurezza degli alimenti.

In considerazione che alcuni prodotti alimentari possono presentare rischi specifici per la salute umana, risulta evidente quanto sia necessaria l'applicazione di specifiche norme in materia di igiene ed in modo particolare quanto riportato vale per gli alimenti di o.a., nei quali spesso sono stati segnalati rischi microbiologici e chimici. Negli ultimi anni, il principio guida della politica agricola comune è stato quello di emanare direttive che fissassero norme sanitarie specifiche che servissero a ridurre le barriere commerciali contribuendo alla creazione del mercato interno e garantendo nel contempo un elevato livello di tutela della salute pubblica. Tali norme contengono principi comuni, specie in relazione alle responsabilità dei fabbricanti e delle autorità competenti, requisiti strutturali, operativi e igienici degli stabilimenti, procedure di riconoscimento degli stabilimenti, requisiti per magazzinaggio e trasporto e bolli sanitari in modo da costituire una base comune per la produzione in condizioni di igiene degli alimenti di o.a.

Attualmente si cerca di conseguire una semplificazione nell'applicazione delle norme emanando regolamenti che portino ad una riformulazione delle norme di igiene specifiche previste nelle direttive esistenti continuando a perseguire l'obiettivo di assicurare un livello elevato di tutela dei consumatori per quanto attiene alla sicurezza dei prodotti, in particolare assoggettando gli operatori del settore alimentare in tutta la Comunità alle medesime norme, e di garantire il corretto funzionamento del mercato interno dei prodotti di o.a.

Si può affermare che i Regolamenti del 29 aprile 2004 vanno in questa direzione e premesso che i requisiti del Regolamento (CE) n. 852/2004 sono in genere sufficienti a garantire la sicurezza degli alimenti negli stabilimenti che svolgono attività al dettaglio che implicano la vendita o la fornitura diretta di alimenti di o.a. al consumatore finale, con il Regolamento (CE) n. 853/2004, che dovrebbe applicarsi generalmente alle attività di commercio all'ingrosso, il Parlamento europeo e il Consiglio hanno voluto stabilire norme generali per gli operatori del settore alimentare in materia di igiene dei prodotti alimentari partendo dal presupposto che tali principi debbano costituire una base comune per la produzione, in condizione di igiene, degli alimenti di o.a. coinvolgendo e corresponsabilizzando anche gli operatori del settore alimentare, compresi i produttori primari, per quanto riguarda la sicurezza, nelle diverse fasi, della catena alimentare.

Parole chiave: Sicurezza alimentare, igiene degli alimenti di origine animale, Regolamento n. 853/2004/CE

Key words: Food safety, hygienic production of food of animal origin, Regulation (EC) n. 853/2004

RIASSUNTO – Gli Autori, poiché alcuni prodotti alimentari possono presentare rischi specifici per la salute umana, e quindi richiedono l’applicazione di specifiche norme in materia di igiene, in particolare se si tratta di alimenti di origine animale, nei quali sono spesso stati segnalati rischi microbiologici e chimici, prendono in considerazione il Regolamento n. 853/2004/CE del Parlamento europeo e del Consiglio, del 29 aprile 2004, che stabilisce norme specifiche in materia di igiene per gli alimenti di origine animale e che si applica alle attività di commercio all’ingrosso (ossia quando un laboratorio annesso all’esercizio di commercio al dettaglio svolge operazioni in vista della fornitura di alimenti di origine animale a un altro stabilimento). Gli Autori si soffermano specificatamente sui contenuti dell’Allegato II, “requisiti concernenti i diversi prodotti di origine animale”, diviso in tre sezioni (marchiatura di identificazione; obiettivi delle procedure basate sui principi HACCP; informazioni sulla catena alimentare) e dell’Allegato III, “requisiti specifici”, diviso in quindici sezioni (carni di ungulati domestici; carni di pollame e di lagomorfi; carni di selvaggina d’allevamento; carni di selvaggina selvatica; carni macinate, preparazione di carni e carni separate meccanicamente (CSM); prodotti a base di carne; molluschi bivalvi vivi; prodotti della pesca; latte crudo e prodotti lattiero-caseari trasformati; uova e ovoprodotti; cosce di rana e lumache; grassi fusi di origine animale e ciccioli; stomachi, vesciche e intestini trattati; gelatina; collagene).

SUMMARY – The Authors, since certain foodstuffs may present specific hazards to human health, requiring the setting of specific hygiene rules, particularly in case for food of animal origin, in which microbiological and chemical hazards have frequently been reported, consider the Regulation (EC) n. 853/2004 of the European Parliament and of the Council of 29 April 2004 laying down specific hygiene rules for food of animal origin and generally applying to wholesale activities (that is, when a retail establishment carries out operations with a view to supplying food of animal origin to another establishment). The Authors consider particularly the Annex II, “requirements concerning several products of animal origin”, divided into three sections (identification marking; objectives of HACCP-based procedures; food chain information) and the Annex III, “specific requirements”, divided into fifteen sections (meat of domestic ungulates; meat from poultry and lagomorphs; meat of farmed game; wild game meat; minced meat, meat preparations and mechanically separated meat (MSM); meat products; live bivalve molluscs; fishery products; raw milk and dairy products; eggs and egg products; frogs’ legs and snails; rendered animal fats and greaves; treated stomachs, bladders and intestines; gelatine; collagen).

Legislazione citata

Direttiva 64/432/CEE del Consiglio, del 26 giugno 1964 , relativa a problemi di polizia sanitaria in materia di scambi intracomunitari di animali della specie bovina e suina (GUCE n. L 121, 29/07/1964).

Direttiva 91/68/CEE del Consiglio, del 28 gennaio 1991 , relativa alle condizioni di polizia sanitaria da applicare negli scambi intracomunitari di ovini e caprini (GUCE L 46, 19/02/1991).

Regolamento (CE) n. 178/2002 del Parlamento europeo e del Consiglio del 28 gennaio 2002 che stabilisce i principi e i requisiti generali della legislazione alimentare, istituisce l'Autorità europea per la sicurezza alimentare e fissa procedure nel campo della sicurezza alimentare (GUCE n. L 031, 01/02/2002).

Regolamento (CE) n. 852/2004 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 29 aprile 2004, sull'igiene dei prodotti alimentari (GUCE L 139, 30/04/2004) e rettifica del Regolamento citato (GUCE n. L 226, 25/06/2004).

Regolamento (CE) n. 853/2004 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 29 aprile 2004, che stabilisce norme specifiche in materia di igiene per gli alimenti di origine animale (GUCE n. L 139, 30 aprile 2004) e rettifica del Regolamento citato (GUCE n. L 226, 25/06/2004).

Regolamento (CE) n. 854/2004 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 29 aprile 2004, che stabilisce norme specifiche per l'organizzazione di controlli ufficiali sui prodotti di origine animale destinati al consumo umano (GUCE n. L 139, 30/04/2004) e rettifica del Regolamento citato (GUCE n. L 226, 25/06/2004).

Regolamento (CE) n. 882/2004 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 29 aprile 2004, relativo ai controlli ufficiali intesi a verificare la conformità alla normativa in materia di mangimi e di alimenti e alle norme sulla salute e sul benessere degli animali (GUCE n. L 191, 30/04/2004) e Rettifica del Regolamento citato (GUCE n. L 191, 28/05/2004).

Elenco dei lavori pubblicati nel 2004

- Biagi G., Luchetti E., Nannipieri S., Signorini G. (2004). Farmacovigilanza dei farmaci veterinari. Nuove norme. Atti SIB, 36: 31-42
- Biagi G, Nannipieri S., Luchetti E., Signorini G. (2004). Additivi destinati all'alimentazione animale. Regolamento (CE) n. 1831/2003. Large Animals Review, 10(3): 3-8
- Biagi G., Signorini G., Nannipieri S. (2004). Mangimi geneticamente modificati. Le nuove norme. Large Animals Review, 10(4): 7-13

- Signorini G., Biagi G., Luchetti E., Cardini G., Bernocchi R. (2004). Veterinary Case History: Forensic and Medical Legal Aspects. Vet. Res. Comm, 28 Suppl. 1: 381-384
- Biagi G., Luchetti E., Bagliacca M., Signorini G., Nannipieri S. (2004). Esche e bocconi avvelenati: ruolo del veterinario in base alla Legge Regionale Toscana n. 39/2001. ODV, 25(9): 42-43
- Signorini G., Biagi G., Nannipieri S. (2004). La Sicurezza alimentare e il paradosso "OGM-free". ODV, 25(12): 43-44

LE PATOLOGIE OCULARI NELLO YORKSHIRE TERRIER: STUDIO RETROSPETTIVO

Barbara Simonazzi

Sezione di Clinica Chirurgica Veterinaria e Medicina D'Urgenza, Dipartimento di Salute Animale,
Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Parma

INTRODUZIONE

Il College Americano degli Oftalmologi Veterinari ha riportato come patologie oculari supposte di natura ereditaria nello Yorkshire Terrier: la cheratocongiuntivite secca (KCS) (2, 4), la persistenza della membrana pupillare (PPM), la distrofia corneale epiteliale o stromale (2), la cataratta (4), l'atrofia retinica generalizzata (3, 4) e la displasia retinica (1, 5). In uno studio del 1995 Whitley e collaboratori aggiungono alle patologie oculari ereditarie tipiche di questa razza, anche distichiasi ed entropion (6).

Scopo di questo studio, è stato quello di segnalare la nostra esperienza relativamente alle patologie oculari riscontrate negli Yorkshire Terriers presentatisi alla nostra attenzione per visita specialistica. In particolare abbiamo cercato di evidenziare e differenziare le patologie oculari di sospetta origine ereditaria da quelle definite di natura acquisita.

MATERIALI E METODI

In questo studio sono stati inclusi 72 cani di razza Yorkshire Terrier sottoposti a visita specialistica per una patologia di carattere oculare.

Tutti gli animali sono stati sottoposti a visita oftalmologica completa.

Sono stati valutati la reazione di ammiccamento alla minaccia, i riflessi pupillari diretti e consensuali, la produzione delle lacrime (Schirmer tear test, Schering Plough Animal Health) e la pressione intraoculare mediante tonometria per appianazione (Tono-Pen XL, Mentor). E' stato inoltre eseguito il test di colorazione con fluoresceina (Fluorescein sterile strips, HS International). L'esame del segmento anteriore è stato condotto mediante biomicroscopia, il segmento posteriore è stato valutato mediante oftalmoscopia diretta previa dilatazione pupillare con tropicamide 0,5% e fenilefrina 10% (Visumidriatic Fenilefrina collirio, Visufarma).

RISULTATI

L'età media dei 72 soggetti presi in esame è risultata di 8,5 anni, con un minimo di 2 mesi ed un massimo di 17 anni. Sono stati esaminati 36 maschi e 36

femmine. In 8 casi è stato colpito l'occhio destro, in 10 il sinistro (18 casi monolaterali) ed in 54 cani la lesione si è presentata bilateralmente. Quindici cani hanno riportato contemporaneamente patologie oculari diverse tra loro (Tabella 1).

Complessivamente sono stati diagnosticati 32 casi di cataratta di cui 8 monolaterali e 24 bilaterali. In 17 occhi la cataratta era incipiente, in 20 immatura, in 18 matura ed in uno ipermatura. In cinque casi la cataratta era di origine diabetica, in un caso congenita, mentre nei restanti casi è stata supposta essere di natura ereditaria (Foto n. 2, 5). La media relativa all'età dei cani che hanno presentato cataratta è risultata di 7,9 anni.

Sono stati evidenziati 17 casi di cheratocongiuntivite secca (KCS), di cui 14 bilaterali e 3 monolaterali, e quattro casi bilaterali di alterazione qualitativa del film lacrimale. Il valori osservati dei test di Schirmer hanno presentato una media di 7,7 mm/min con un range da 0 a 14 mm/min.

In tre casi è stata diagnosticata una distrofia corneale stromale, in tre un'erosione corneale epiteliale di tipo recidivante, in due casi un'ulcera (Foto n.1), in due casi un'ulcera a collagenasi ed in un altro un descemetocoele.

Per quanto riguarda le palpebre, invece, tre cani sono stati interessati da blefarite allergica bilaterale, solo un cane da entropion bilaterale mediale inferiore e superiore, solo un cane da meibomite bilaterale ed un altro da lacerazione monolaterale della palpebra inferiore.

In un solo caso sono stati diagnosticati un glaucoma ed una sublussazione monolaterale della lente.

In quattro cani sono stati evidenziati casi di uveite (tre monolaterali ed uno bilaterale), due di tipo facolitico, uno di tipo traumatico ed il restante conseguente a Leishmaniosi.

In otto cani è stata diagnosticata una patologia del segmento posteriore, nello specifico: cinque casi di atrofia retinica progressiva (PRA) (Foto n. 5), un caso di corioidropatia ipertensiva un caso di sudden acquired retinal degeneration (SARD) ed uno di distacco retinico ipertensivo. Un solo cane ha presentato una proptosi monolaterale del bulbo (Foto n. 3, 4).

Complessivamente le patologie oculari riportate sono state 85 di cui 55 di natura ereditaria o presunta tale (distrofia corneale, KCS, cataratta, PRA), e 30 di tipo acquisito (proptosi del bulbo, blefarite allergica, entropion, meibomite, lacerazione palpebrale, alterazione qualitativa del film lacrimale, erosione corneale epiteliale di tipo recidivante, ulcera, ulcera a collagenasi, descemetocoele, uveite, glaucoma, sublussazione della lente, SARD, corioidropatia e distacco retinico ipertensivo) (Tabella 1). Tra queste ultime rimane comunque il dubbio che un caso di ulcera e due casi di uveite fossero patologie secondarie, correlate, nel primo caso a cheratocongiuntivite secca e nel secondo a cataratta.

Solo 16 dei 32 casi di cataratta sono stati sottoposti ad intervento chirurgico (oltre ai cani non operati per volere dei proprietari, sono stati esclusi dall'intervento i soggetti con concomitanti patologie oculari quali KCS e PRA), i restanti cani non hanno effettuato nessun tipo di terapia farmacologica.

I casi di cheratocongiuntivite secca ed alterazione qualitativa del film lacrimale, sono stati trattati con una terapia a base di sostituti delle lacrime (localmente 3-4 volte al giorno) e ciclosporina locale (mattino e sera) continuata nel tempo.

I cani con distrofia corneale sono stati sottoposti a terapia locale con glucosio al 35% (1 goccia 3-4 volte al giorno).

Le erosioni corneali epiteliali recidivanti sono state sottoposte ad intervento combinato di debridement e cheratotomia a griglia, seguito da terapia locale fino a guarigione, a base di antibiotico in collirio (1 goccia 3-4 volte al giorno) e atropina solfato collirio 1% (una goccia mattino e sera per i primi 3 giorni e poi 1 goccia al mattino per i giorni restanti).

L'ulcera è stata sottoposta a trattamento con antibiotico in collirio (1 goccia 3-4 volte al giorno fino a guarigione) e atropina solfato collirio 1% (una goccia mattino e sera per i primi 3 giorni e poi 1 goccia al mattino per i giorni restanti). Nel caso dell'ulcera a collagenasi è stata associata al trattamento sopra descritto una terapia locale a base di acetilcisteina (1 goccia 3-4 volte al giorno fino a guarigione). Nel cane in cui l'ulcera era associata a KCS, la terapia a base di atropina (farmaco parasimpaticolitico) è stata sostituita da una somministrazione (3 volte al giorno) locale di fenilefrina e la KCS, probabile responsabile della patologia è stata gestita come sopra indicato.

Il cane con descemetocle è stato trattato mediante l'esecuzione di un flap congiuntivale peduncolato.

I casi di blefarite allergica sono stati trattati con cortisone locale (1 goccia 3-4 volte al giorno per 15 giorni), associato ad antistaminico locale (mattino e sera per 15 giorni). L'entropion mediale è stato sottoposto ad intervento di cantoplastica mediale, la lacerazione palpebrale è stata suturata, mentre i casi di meibomite sono stati sottoposti a terapia antibiotica e cortisonica locale (3-4 volte al gg) e sistemica (deltacortene 1 mg/kg pv a scalare e cefalosporine 20 mg/kg pv BID per 15 gg).

Il cane con glaucoma è stato trattato mediante terapia locale con inibitori dell'anidraasi carbonica e farmaci betabloccanti (mattino e sera).

I casi di uveite sono stati trattati mediante terapia cortisonica locale (1 goccia 4-5 volte al giorno) e sistemica (deltacortene 1 mg/kg pv a scalare) oltre che mediante terapia locale con atropina solfato collirio 1% (una goccia mattino e sera per i primi 3 giorni e poi 1 goccia al mattino per i giorni restanti).

Per quanto riguarda i cani coinvolti da patologie retiniche quali SARD e PRA, una volta confermata la diagnosi mediante esame elettroretinografico (ERG), non è stato effettuato nessun tipo di trattamento. I soggetti con alterazioni oculari secondarie a problemi di natura ipertensiva sono stati inviati ad un collega per il controllo medico del problema in questione. Il soggetto con proptosi del bulbo è stato sottoposto ad intervento di enucleazione (Foto n.3, 4).

I cani sottoposti sia a terapia farmacologica che chirurgica hanno presentato la completa risoluzione del quadro clinico. Un miglioramento significativo, ma non una guarigione definitiva si è avuto nei cani interessati da distrofia corneale, KCS, alterazione qualitativa del film lacrimale e problemi di tipo ipertensivo.

Tabella n.1.

	SESSO	ETA' ANNI	OCCHIO	PATOLOGIA
1	M	11	OU	Cataratta immatura OD, sublussazione lente OS
2	M	11	OU	Cataratta incipiente, SARD
3	M	12,5	OU	KCS OU, ulcera OS
4	M	10	OD	Coroidopatia ipertensiva
5	F	17	OS	Uveite
6	M	11	OU	PRA OU, cataratta incipiente OS
7	F	10	OD	KCS, descemetocoele
8	M	3	OU	Cataratta matura
9	M	5,5	OD	Cataratta incipiente
10	M	10	OU	KCS
11	F	11	OD	Cataratta ipermatura
12	F	6	OU	Cataratta immatura
13	F	11	OU	Cataratta incipiente, PRA
14	M	2	OU	Blefarite allergica
15	M	11	OU	KCS OS, cataratta incipiente OU
16	F	1	OU	Entropion mediale sup. ed inf.
17	M	8	OU	Cataratta matura
18	F	7	OU	KCS OU, glaucoma OS
19	F	5	OD	Distrofia corneale stromale
20	M	0,2	OU	Cataratta matura congenita, PPM
21	M	12	OU	Cataratta incipiente
22	F	7	OU	Cataratta immatura
23	M	8	OU	KCS
24	F	9,5	OU	Cataratta immatura
25	F	3,5	OU	Cataratta matura
26	F	8	OU	Cataratta immatura
27	M	4	OD	Cataratta matura, uveite facolitica
28	F	11	OU	Cataratta immatura
29	M	8	OU	Cataratta matura
30	F	3	OU	Cataratta matura OD, incipiente OS, uveite facolitica OD
31	M	12	OD	Proptosi del bulbo
32	F	2,5	OU	Blefarite allergica
33	F	12	OS	Cataratta immatura, ulcera
34	M	10	OU	Cataratta immatura
35	M	13	OU	KCS
36	F	11	OU	KCS

37	F	10	OU	Cataratta matura, PRA
38	F	12	OD	Cataratta immatura
39	F	13	OU	Alterazione qualitativa del film lacrimale
40	F	8	OU	Alterazione qualitativa del film lacrimale
41	F	8	OU	KCS
42	F	2	OU	Alterazione qualitativa del film lacrimale
43	M	12	OS	Distrofia corneale stromale
44	M	15	OU	KCS
45	F	8	OS	Erosione recidivante
46	F	3,5	OU	Distacco retinico ipertensivo
47	F	10	OU	KCS
48	M	2	OU	Blefarite allergica
49	M	7	OU	KCS
50	M	10	OU	Cataratta incipiente
51	M	10	OS	Ulcera a collagenasi
52	M	11	OS	Erosione recidivante
53	M	8	OS	Erosione recidivante
54	F	7	OU	KCS
55	F	12	OU	Cataratta immatura, PRA
56	M	9	OU	Cataratta incipiente
57	F	16	OS	Ulcera a collagenasi
58	F	10	OU	Cataratta matura OU, KCS OD
59	M	6	OU	Uveite
60	M	10	OU	KCS
61	M	8	OU	Distrofia corneale stromale
62	F	10	OU	PRA
63	F	10	OU	KCS
64	M	7	OU	Cataratta matura
65	F	6	OS	Lacerazione palpebra inferiore
66	M	11	OU	Meibomite
67	F	7	OU	Alterazione qualitativa del film lacrimale
68	M	13	OU	KCS
69	M	4	OS	Cataratta immatura
70	F	10	OU	Cataratta immatura
71	F	11	OU	KCS
72	M	1	OU	Cataratta incipiente

Legenda

OD: occhio destro, OS: occhio sinistro, OU: entrambi gli occhi

DISCUSSIONE E CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

Da questo lavoro emerge come la maggior parte delle patologie oculari nello Yorkshire Terrier siano patologie di tipo ereditario (65%). Le patologie più frequenti sono state osservate a carico della lente (38,8%) e del sistema lacrimale (24,7%).

Per quanto riguarda l'età, possiamo evidenziare come la media sia piuttosto alta (8,5 anni) e come non ci siano differenze significative per quanto riguarda il sesso. La media relativa all'età dei cani che hanno presentato cataratta è risultata di 7,9 anni; questo dato si discosta da quello riportato da Whitley, che segnalava un periodo che va dai 3 ai 6 anni per quanto riguarda la comparsa della cataratta in questa specie canina (6). E' comunque importante sottolineare come spesso il proprietario conduca il proprio cane alla visita clinica, magari anche alcuni anni dopo la comparsa della prima opacità a carico della lente.

Pur non presentandosi direttamente alla nascita o nei primi anni di vita dell'animale, infatti, molte delle patologie compaiono in fase avanzata, poiché la predisposizione alla patologia può manifestarsi in concomitanza con il raggiungimento dell'età adulta da parte dell'animale.

Anomalie quali cheratocongiuntivite secca, distrofia corneale, cataratta e PRA, sono quindi, spesso, il risultato di intensi programmi di incrocio basati su soggetti interessati da anomalie.

Le modificazioni genetiche nello Yorkshire Terrier, come anche in altre razze canine, sono state create sia in modo inconsapevole, sia con lo scopo di ottenere determinate caratteristiche, esasperandone alcune particolarità. Pertanto, i problemi sono insorti sia in modo casuale, associati a questo processo di selezione, sia come conseguenza di una precisa volontà da parte degli allevatori nell'essere all'altezza dello standard di razza. Mentre le malattie acquisite non si possono evitare, le malattie oculari ereditarie con le loro gravi manifestazioni cliniche, devono essere prevenute. I difetti ereditari si possono, infatti, eliminare completamente, o si può ridurre al massimo la loro incidenza, mediante misure di controllo efficaci fondate su accoppiamenti tra soggetti non interessati dalla malattia. Patologie oculari considerate ereditarie nello Yorkshire Terrier quali cataratta e PRA, sono, tra l'altro, malattie estremamente invalidanti che possono frequentemente portare l'animale alla cecità. Ed inoltre, mentre nel primo caso la patologia è risolvibile dal punto di vista chirurgico (nonostante l'intervento sia piuttosto delicato e dispendioso), nel secondo caso essa risulta assolutamente irreversibile ed invalidante per l'animale.

Nel nostro studio ben il 46% dei soggetti presi in esame ha presentato una (87,9%), o addirittura entrambe (12,1%) queste malattie.

Ai fini della prevenzione delle malattie ereditarie del segmento anteriore e posteriore, nello Yorkshire Terrier come anche nelle altre razze canine, sarebbe interessante una politica di sensibilizzazione in allevamento per la selezione di soggetti esenti da questo tipo di patologie.

Lo scopo principale sarebbe quindi quello di garantire l'assenza di segni clinici di malattie oculari ereditarie nei cani utilizzati a scopo riproduttivo.

Al fine di ottenere questo risultato, è importante, non solo che tutti i cani destinati a tale impiego vengano esaminati nell'ambito del progetto, indipendentemente

dal fatto che nella razza sia nota o meno la presenza di disordini oculari ereditari, ma anche che il progetto stesso sia sottoposto a continue rivalutazioni.

BIBLIOGRAFIA

1. ACVO Genetics Committee: Ocular disorders or suspected to be hereditary in dogs. ACVO ed., 2nd ed., 1996.
2. Gelatt K.N. Veterinary ophthalmology. 3 rd ed. Philadelphia, Lea & Febiger, 1999.
3. Jégou J.P. Patologie ereditarie e congenite del cane e del gatto. Summa, 1997, 43-70.
4. Severin G.A. Veterinary ophthalmology notes. 2 nd ed. Ft. Collins, Colorado State University, 1996.
5. Stades F.C., Wyman M., Boevé M.H., Neumann W. Ophthalmology for the Veterinary Practitioner. Hannover, Schlütersche GmbH & Co., 1998.
6. Whitley R.D., McLaughlin S.A., Gilger B.C. Update on eye disorders among purebred dogs. Vet. Med., 1995, 577-592.

Parole chiave: cane, occhio, Yorkshire Terrier, malattia

Key words: dog, eye, Yorkshire Terrier, disease

Mots Clés: chien, oeil, Yorkshire Terrier, maladie

Riassunto

In questo studio vengono presi in considerazione 72 cani di razza Yorkshire Terrier sottoposti a visita specialistica per un problema oculare. Vengono esaminati 36 maschi e 36 femmine, l'età media è di 8,5 anni con un minimo di 2 mesi ed un massimo di 17 anni. La patologia è bilaterale in 54 cani. Complessivamente sono state diagnosticate le seguenti patologie oculari: cataratta (32 casi) cheratocongiuntivite secca (KCS, 17 casi), alterazione qualitativa del film lacrimale (4 casi), distrofia corneale (3 casi), erosione corneale recidivante (3 casi), ulcera (2 casi), ulcera a collagenasi (2 casi), descemetocoele (un caso), blefarite allergica (3 casi), entropion (un caso), meibomite (un caso), lacerazione palpebrale (un caso), glaucoma (un caso), sublussazione della lente (un caso), uveite (4 casi), PRA (5 casi), SARD (un caso), corioidopatia ipertensiva (un caso), distacco retinico ipertensivo (un caso), proptosi (un caso).

Le patologie oculari ereditarie sono risultate il 65% delle patologie complessivamente diagnosticate in questa razza.

Summary

In this study we considered 72 Yorkshire Terriers referred to a specialistic visit for an ocular problem. We examined 36 males and 36 females, the average age was 8,5 years with a range of 2 months to 17 years. Pathology is bilateral in 54

cases. Overall, the following ocular pathologies were diagnosed: cataract (32 cases), keratoconjunctivitis sicca (KCS, 17 cases), qualitative tear deficiency (4 case), corneal dystrophy (3 cases), recurrent epithelial corneal erosion (3 cases), ulcer (2 cases), collagenolytic ulcer (2 cases), descemetocèle (a case), allergic blepharitis (3 cases) entropion (a case), meibomianitis (a case), palpebral wound (a case), glaucoma (a case), lens subluxation (a case), uveitis (4 cases), PRA (5 cases), SARD (a case), hypertensive choroidopathy, (a case), hypertensive retinal detachment (a case), proptosis (a case). Hereditary ocular pathologies have turned out to be 65% of all pathologies diagnosed in this breed.

Résumé

Dans cette étude nous avons soumis à une visite specialistic 72 Yorkshire Terriers pour un problème oculaire. Nous avons examiné 36 mâles et 36 femelles, l'âge moyen est de 8,5, la plus bas est de 2 mois et la plus grande est de 17 mois. La pathologie est bilatérale dans 54 cas. En conclusion, on a diagnostiqué: cataracte, (32 cas) kératoconjunctivite sèche (KCS, 17 cas), alteration qualitative de larme (4 cas), dystrophies cornéennes (3 cas), érosion cornéenne récurrente (3 cas), ulcère (2 cas), ulcère a collagénase (2 cas), descemétocèle (un cas), blefarite allergique (3 cas) entropion (un cas), meibomite (un cas), blessure palpébrale (un cas), glaucome, (un cas), sublussazione du cristallin (un cas), uvéite (4 cas), PRA (5 cas), SARD (un cas), pathologie de la coroïde de type hypertensif (un cas), décollemente de rétine de type hypertensif (un cas), proptosis (un cas). Les pathologies oculaires héréditaires sont resultées le 65% de toutes les pathologies diagnostiquées dans cette race.



Foto 1: *Ulcera corneale occhio sinistro (caso n. 3)*



Foto 2: *Cataratta bilaterale, matura occhio destro, incipiente occhio sinistro (caso n. 30)*



Foto 3: *Proptosi del bulbo occhio destro (caso n. 31)*



Foto 4: *Enucleazione occhio destro conseguentemente a proptosi del bulbo (caso n. 31)*



Foto 5: *Cataratta immatura bilaterale con associata PRA (caso n. 37)*

Con la collaborazione tecnica di Giuseppe Bertaccini.

LA CHERATITE EOSINOFILICA/PROLIFERATIVA NEL GATTO

Barbara Simonazzi

Sezione di Clinica Chirurgica Veterinaria e Medicina d'Urgenza, Dipartimento di Salute Animale,
Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Parma

Riassunto

La cheratite eosinofilica/proliferativa è un'entità patologica specifica del gatto, ma presente anche nel cavallo (5), piuttosto rara, che si affianca all'elenco delle cosiddette "malattie eosinofile del gatto", pur non sembrando esserne necessariamente correlata (15). Nel passato, infatti, la patologia era stata definita come cheratite eosinofilica, più recentemente invece è stato proposto il termine più ampio di cheratocongiuntivite proliferativa (5). Si presenta come una patologia corneale progressiva ed infiltrante che si manifesta attraverso una vascolarizzazione superficiale seguita dalla formazione di placche bianco-rosate, tendenti in alcuni casi al giallo. La terapia d'elezione consiste nella somministrazione per via orale di megestrolo acetato (10).

Parole chiave: gatto, occhio, cheratite, cornea, eosinofilica, herpesvirus

Summary

The eosinophilic/proliferative keratitis is a pathological entity specific of the cat, but present also in horses (5). This disease is rather rare and it has been proposed to be a manifestation of the so-called "eosinophilic diseases of the cat", also if it seems not necessarily correlated (15).

The condition, in fact, has been termed eosinophilic keratitis in the past. More recently, however, a more inclusive term of proliferative keratoconjunctivitis, has been proposed (5). It's a progressive, infiltrative disease of the cornea that manifests itself through a superficial vascularization followed by the formation of white to pink plaques, tending in some cases to yellow. The election therapy consists in the administration of oral megestrol acetate (10).

Key words: cat, eye, keratitis, cornea, eosinophilic, herpesvirus

Résumé

La kératite éosinophilique /proliferative est une entité pathologique plutôt rare typique du chat, mais présent même dans le cheval (5). Elle s'appuie à la liste

des soi-disantes “maladies éosinophilique du chat”, même ne semblant pas en être nécessairement corrélée (15). Au temps passé la pathologie avait été définie comme kératite éosinophilique, plus récemment, par contre, on a proposé au sens le plus large du mot le terme de kératoconjonctivite proliférative (5). Elle se présente comme une pathologie progressive et infiltrante de la cornée qui se manifeste par une vascularisation superficielle suivie de la formation de plaques “blanc-rosate”, qui tendent dans quelques cas au jaune. Le traitement d’élection est représenté par l’administration de “megestrol acetate” par voie orale (10).

Mots Clés: chat, oeil, kératite, cornée, éosinophilic, herpes viruse

Eziopatogenesi

Molte sono le ipotesi eziopatogenetiche anche se nulla è ancora stato dimostrato con certezza (1, 8). L’eziologia, infatti, non è stata ancora definita in modo preciso, da una parte sembra esservi un’associazione con il virus dell’herpes felino (3, 5), dall’altra la cheratite eosinofila è stata definita per anni da molti autori come una manifestazione corneale localizzata della dermatite eosinofila (complesso granuloma eosinofilo, EGC) del gatto (4, 6, 7, 8, 10, 16). In uno studio del 1998 Nasisse e collaboratori hanno dimostrato una positività nei confronti dell’FHV-1 (herpesvirus-1) nel 76% dei casi interessati da cheratite proliferativa accertata mediante la PCR (polymerase chain reaction) (1, 5, 9). Certo è che la cheratite eosinofila e la cheratite proliferativa siano, entrambe, variazioni della medesima condizione di tipo immunomediato (3).

Nel 1991 Victoria W. Pentlarge riportava 5 casi di congiuntivite eosinofila diagnosticati per l’elevata presenza di granulociti eosinofili nel tessuto congiuntivale e proponeva una possibile eziologia di natura allergica (11). Del resto queste forme sono, inoltre, considerate molto simili alle congiuntiviti allergiche osservate in medicina umana (11).

Quadri clinici

La presentazione clinica può variare, anche se generalmente la patologia si manifesta attraverso un quadro di cheratite cronica diffusa. La cheratite si manifesta mediante lo sviluppo di aree di tessuto infiammatorio superficiale di colore biancastro-rosato, associate ad imponente vascolarizzazione che di solito hanno come punto d’insorgenza il limbo e si sviluppano lentamente in direzione centripeta. Inizialmente i due quadranti maggiormente colpiti sono il dorsolaterale ed il ventrolaterale (1, 3) (Foto n. 1), ma le lesioni possono essere repertate in tutti e quattro i quadranti (20). Le aree biancastre sono zone necrotiche di aspetto caseoso che originano sulla superficie del tessuto di granulazione e si organizzano in placche piuttosto rilevate.

Spesso si ha anche una zona di transizione edematosa che separa il tessuto patologico dalla cornea sana; in alcuni casi possono essere presenti anche lievi erosioni corneali (1, 8, 10). I margini palpebrali e la terza palpebra possono apparire ispessiti ed in alcuni casi anche depigmentati (1, 8). Il quadro sembra essere conseguente ad un processo infiammatorio di tipo cronico-granulomatoso (14). Questo tipo di lesioni, se non trattate, possono arrivare a ricoprire completamente la cornea dando luogo anche a cecità completa (16). Anche la congiuntiva palpebrale e quella bulbare possono essere interessate dal processo patologico (8, 13).

La cheratite si può manifestare mono o bilateralmente; generalmente il processo patologico inizia a carico di un singolo occhio ed in seguito subentra il coinvolgimento bilaterale con conseguente cronicizzazione della patologia (5, 15). Non vi sono accertate predisposizioni di razza ed il soggetto interessato non presenta particolari segni di fastidio oculare (blefarospasmo, fotofobia, lacrimazione) (1, 5, 8, 10). A volte può essere presente uno scolo oculare minimo (1, 8) ed in alcuni casi è stata rilevata la diminuzione di secrezione del film lacrimale mediante test di Schirmer (4). Quest'ultimo aspetto può essere correlato con un'infezione cronica da herpesvirus tipo-1 (FHV-1) (3, 19).

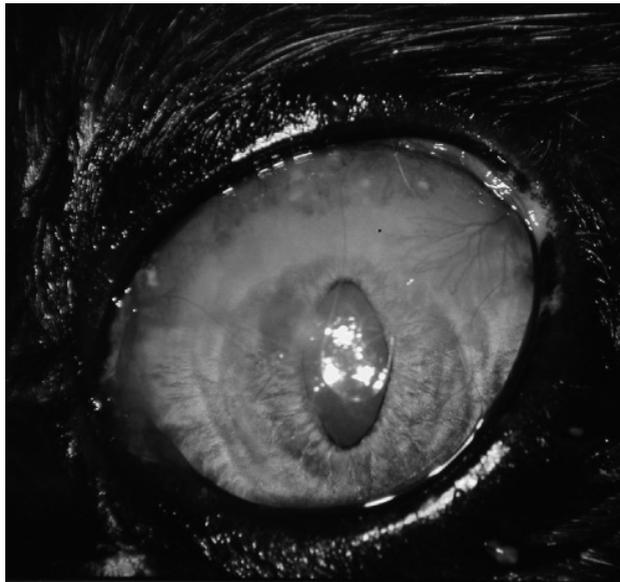


Foto n. 1

Diagnosi

Il sospetto diagnostico è in genere basato esclusivamente sull'aspetto del quadro clinico, peraltro molto caratteristico, la cornea, infatti, appare fortemente

ispessita da un infiltrato superficiale piuttosto denso e compatto (5). La conferma diagnostica si ha comunque sempre in seguito al referto dell'esame citologico o istologico. Il prelievo per la citologia viene effettuato attraverso scarificazione ottenuta mediante spatola di Kimura sulla porzione di cornea e congiuntiva interessate dal processo patologico. Istopatologicamente la cheratite proliferativa è definita come una risposta infiammatoria cronica di tipo granulomatoso caratterizzata da un infiltrato cellulare infiammatorio in cui si evidenzia la presenza di granulociti eosinofili, neutrofili, plasmacellule, linfociti ed occasionalmente mastociti ed istiociti (1, 3, 7, 8, 14). Nei preparati citologici provenienti da raschiato corneale vi è in genere la predominanza di granulociti eosinofili e, a volte, in seguito ad esami ematici si può rilevare anche un'evidente eosinofilia (5).

Le diagnosi differenziali in caso di cheratite proliferativa felina sono date da tutte le forme di congiuntiviti del gatto con o senza presenza di lesioni corneali associate, dalle cheratiti micotiche, dall'istiocitoma fibroso e dalla presenza di neoplasie corneali (12).

Terapia

La terapia si basa essenzialmente sull'utilizzo di pomate oftalmiche o colliri contenenti desametasone 0,1% o prednisolone 1%, e sulla somministrazione di compresse di megestrolo acetato, un farmaco progestinico con elevato potere antinfiammatorio (11). Alcuni Autori consigliano anche la somministrazione di glicocorticoidi deposito tramite iniezioni sottocongiuntivali di triamcinolone acetato (3, 20).

La terapia topica viene effettuata inizialmente 4 volte al giorno e poi ridotta dopo alcune settimane ad una terapia di mantenimento di 1-2 volte al giorno, mentre il megestrolo si somministra per via orale alle dosi di 5 mg al giorno per cinque giorni, per poi passare alla dose di 5 mg a giorni alterni per cinque volte ed infine di 5 mg alla settimana per alcuni mesi secondo il caso clinico e la sua risposta alla terapia (5, 14). In uno studio del 1989 Chisolm W.H. riporta una posologia di 1,25 mg al giorno per dieci giorni e poi gradualmente a scalare per altre sei settimane (2).

La terapia così instaurata, determinava, nel paziente sottoposto alla somministrazione del megestrolo, inizialmente la risoluzione della patologia, seguita poi da recidiva alla sospensione del trattamento (2). Considerando che la sospensione della terapia può dare luogo a recidive, si consiglia di tenere il soggetto sempre sotto controllo. In uno studio di Morgan e collaboratori le recidive vengono riportate pari al 65,5% dei casi (8). Alcuni pazienti vengono trattati per tutta la vita con una terapia di mantenimento che consiste nella somministrazione di 2,5 mg alla settimana di megestrolo acetato. Da tenere presente vi sono sicuramente i potenziali gravi effetti collaterali di questo farmaco quali diabete mellito, piometra, neoplasia ed iperplasia mammaria (1, 5), oltre a polifagia, aumento del peso, modificazioni comportamentali (depressione, aggressività) ed alopecia temporanea (4, 6, 10, 20). Questo tipo di trattamento può venire associato alla somministrazione topica di Ciclosporina A allo 0,2-2% considerando il suo importante potere immunomodulatore (1, 17, 18). La

ciclosporina viene inoltre utilizzata per incrementare la secrezione lacrimale oltre che per diminuire la vascolarizzazione corneale, spesso piuttosto estesa (3). Le lesioni precoci regrediscono in genere rapidamente con un netto miglioramento nell'arco di 5-7 giorni (16).

L'uso di farmaci locali antivirali associati a quelli ad effetto immunosoppressore potrebbe dimostrarsi un buon ausilio, visto e considerato il recente risultato di positività all'FHV-1 di parecchi gatti interessati da cheratocongiuntivite proliferativa (3, 5, 9). In casi cronici può essere indicata la cheratectomia superficiale considerando che le lesioni interessano la zona più superficiale della cornea (epitelio e stroma superficiale) (13).

Caso clinico n. 1

Gatto maschio, Persiano, castrato, anni 4, con presenza di diffusa neovascolarizzazione e cheratite superficiale di aspetto granulare biancastro a carico dell'occhio sinistro (Foto n. 2). Miglioramento del quadro clinico conseguente a terapia sistemica a base di megestrolo acetato alle dosi sopra indicate ed a terapia locale con desametasone collirio 0,1% somministrato quattro volte al giorno per un periodo complessivo di nove giorni (Foto n. 3).



Foto n. 2



Foto n. 3

Caso clinico n. 2

Gatto femmina, Europeo, ovariectomizzata, anni 7, con presenza di abbondante tessuto di granulazione e piccole placche necrotiche bianco giallastre a carico dell'occhio sinistro (Foto n. 4).

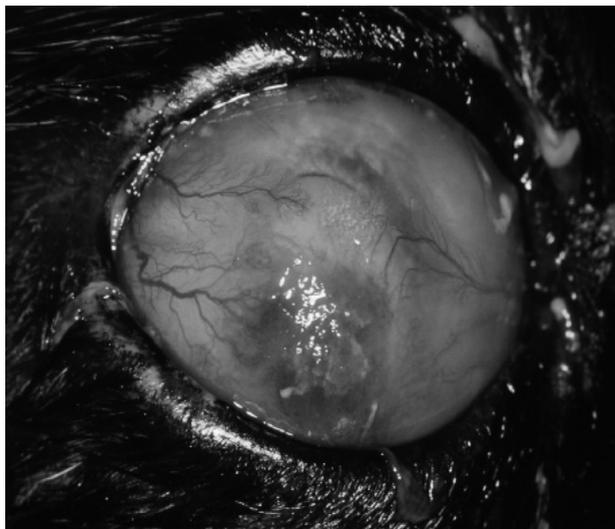


Foto n. 4

Caso clinico n. 3

Gatto maschio, Europeo, intero, anni 11, con presenza di lesioni vascolarizzate superficiali e placche rilevate bianche a carico dell'occhio sinistro (Foto n. 5).



Foto n. 5

Conclusioni

Nonostante l'eziologia della cheratite eosinofila non sia ancora completamente nota, tuttavia, la risposta clinica ai trattamenti di tipo immunosoppressivo indica come questa patologia possa essere considerata un disturbo di tipo immunomediato. La terapia consigliata in questo tipo di patologia è esclusivamente volta al controllo della risposta infiammatoria e vascolare (3).

Bibliografia

1. Barnett K.C., Crispin S.M.. Feline Ophthalmology. WB Saunders Company, Londra, 1998, 93-95.
2. Chisholm W.H. Feline eosinophilic keratitis. Can. Vet. J, 1989, 30, 438.
3. Colitz C.M.H., Davidson M.G., Gilger B.C. Bilateral proliferative keratitis in a Domestic Long-haired cat. Vet. Ophthalm., 2002, 5, 137-141.
4. Collins B.K., Swanson J.F., Mac Williams P.S. Eosinophilic keratitis and keratoconjunctivitis in a cat. Mod. Vet. Pract., 1986, 67, 32-35.

5. Gelatt K.N. *Veterinary Ophthalmology*. 3rd ed., Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 1999, 261-391-1016.
6. Keil S.M., Olivero D.K., McKeever P.J., Moore F.M. Bilateral Nodular Eosinophilic Granulomatous Inflammation of the Nictitating Membrane of a Cat. *Vet. & Comp. Ophthalmol.*, 1997, 7, 4, 258-262.
7. Kipnis R.M. Corneal eosinophilic granuloma. *Fel. Pract.* 1979, 9, 49-53.
8. Morgan R.V., Abrams K.L., Kern T.J. Feline Eosinophilic Keratitis: A Retrospective Study of 54 Cases: (1989-1994). *Vet. & Comp. Ophthalmol.*, 1996, 6, 2, 131-134.
9. Nasisse M.P., Glover T.L., Moore C.P., Weigler B.J. Detection of feline herpesvirus 1 DNA in corneas of cats with eosinophilic keratitis or corneal sequestration. *Am. J of Vet. Res.*, 1998, 59 7, 856-858.
10. Paulsen M.E., Lavach J.D., Severin G. A., Eichenbaum J.D. Feline Eosinophilic Keratitis: A Review of 15 Clinical Cases. *J Am. Anim. Hosp. Assoc.* 1987, 23, 63-69.
11. Pentlarge V.W. Eosinophilic Conjunctivitis in Five Cats. *J Am. Anim. Hosp. Assoc.*, 1991, 27, 21-28.
12. Pentlarge V.W., Riis R.C. Proliferative keratitis in a cat: A Case Report. *J Am. Anim. Hosp. Assoc.*, 1984, 20, 477-480.
13. Peruccio C. *Atlante di oftalmologia veterinaria*. Ed. Medico Scientifiche, Torino, 1985, 205.
14. Peruccio C., Bo S., Lotti D. Diagnosi e terapia delle malattie oculari caratteristiche del gatto. *Veterinaria*, 1995, 9, 1, Marzo, 85-89.
15. Prasse K.W., Winston S.M. Cytology and Histopathology of Feline Eosinophilic Keratitis. *Vet. & Comp. Ophthalmol.*, 1996, 6, 2, 74-81.
16. Severin G.A. *Veterinary ophtalmology notes*. 2nd ed., Fort Collins, Colorado State University, 1996, 304.
17. Stades F.C., Wyman M, Boevé MH, Neumann W. *Ophthalmology for the Veterinary Practitioner*. Schlütersche GmbH & Co, Hannover, 1998, 113-114.
18. Walde I., Schaffer E.H., Kostlin R.G. *Atlas der Augenerkrankungen bei Hund und Katze*. Schattauer, Stuttgart, New York, 1997, 266-267.
19. Weigler B.J., Babineau C.A., Sherry B., Nasisse M.P. High sensitivity polymerase chain reaction assay for active and latent feline herpesvirus-1 infections in domestic cats. *The Vet. Rec.*, 1997, 140, 335-338.
20. Whitley R.D., Whitley E.M., Mc Laughing S.A. Diagnosing and treating disorders of the feline conjunctiva and cornea. *Vet. Med.*, 1993, 88, 1138-1149.

CONFRONTO DI TRE PROTOCOLLI ANESTESIOLOGICI PER L'ANESTESIA DEGLI PSITTACIDI

Leonardi F., De Razza P., Calzolari A., Venzi C., Zavattiero S., De Risio L., Zanichelli S.

Riassunto

40 pappagalli sani sono stati anestetizzati al fine di determinare il sesso per via laparoscopica. Sono stati suddivisi in 3 gruppi: gruppo A (induzione e mantenimento con isofluorano), gruppo B (premedicazione con medetomidina IM e induzione e mantenimento con isofluorano) e gruppo C (induzione e mantenimento con una miscela di medetomidina e ketamina IM). Sono stati valutati gli effetti sulla frequenza respiratoria, cardiaca e temperatura cloacale, nonché la qualità della premedicazione, dell'induzione, del mantenimento e del risveglio. Tutti i protocolli hanno ridotto frequenza cardiaca, respiratoria e temperatura cloacale, ma gli effetti sono stati meno marcati per il gruppo A. Nel gruppo B si è avuta una notevole riduzione dei parametri valutati, mentre il gruppo C ha avuto un comportamento intermedio. Il livello di sedazione ottenuto con la premedicazione con medetomidina è stato inadeguato. La qualità dell'induzione è stata ottima in tutti i gruppi, mentre il risveglio è stato rapido per i gruppi A e B e prolungato per il C. Tutti i protocolli si sono dimostrati sicuri ed efficaci, ma la medetomidina ha determinato notevole depressione cardiorespiratoria e la ketamina ha causato risvegli prolungati. Il protocollo totalmente inalatorio con isofluorano è da preferirsi agli altri.

Summary

Endoscopic determination of gender under general anesthesia was performed in forty healthy psittacine birds. Parrots were randomly divided in three groups: group A (induction and maintenance by mask administration of isoflurane), group B (premedication by medetomidine IM and induction and maintenance by mask administration of isoflurane) and group C (induction and maintenance by administration of a mixture of medetomidine-ketamine IM). We evaluated the effects on cardiac and respiratory rates and cloacal temperature, the sedative effects of medetomidine and the quality of induction, maintenance and recovery. A decrease in heart and respiratory rates and cloacal temperature was observed in all groups. The greatest decrease was recorded in group B while group A showed minor changes. Medetomidine did not induce a desirable state of sedation. Induction was excellent for all groups. Recovery was rapid and smooth for groups A and B and delayed for group C. Every anaesthetic regimen resulted safe and effective, but medetomidine produced a marked cardiorespiratory depression and ketamine caused delayed recoveries. Isoflurane is the best choice for anesthesia in psittacine birds.

Résumé

40 perroquets sains ont été anesthésiés pour la détermination du sexe par laparoscopie. Ils ont été répartis dans 3 groupes: group A (induction et maintien avec isoflurane), group B (prémédication avec médétomidine, induction et maintien avec isoflurane) et group C (induction et maintien avec un mélange de médétomidine et kétamine). On a évalué les effets sur la fréquence respiratoire, cardiaque et sur la température du cloaque, la qualité de la prémédication, de l'induction, du maintien et du réveil. Tous les protocoles ont réduit la fréquence cardiaque, respiratoire et la température du cloaque, même si les effets ont été moins évidents dans le group A. Dans le group B on a observé une considérable réduction de ces paramètres, tandis que le group C a eu un comportement intermédiaire. Le niveau de sédation obtenu par la prémédication avec médétomidine a été insuffisant. La qualité de l'induction a été excellente dans tous les groupes pendant que le réveil a été rapide dans les group A et B et prolongé dans le group C. Tous les protocoles se sont démontrés sûrs et efficaces, même si la médétomidine a déterminé une considérable dépression cardiorespiratoire et la kétamine a causé des réveil prolongés; par conséquent le protocole totalement inhalateur avec isoflurane est meilleur par rapport aux autres.

Parole chiave: anestesia, medetomidina, ketamina, isofluorano, pappagallo

Key words: anaesthesia, medetomidine, ketamine, isoflurane, parrot

Mots clefs: anesthésie, médétomidine, kétamine, isoflurane, perroquet

Introduzione

La famiglia degli Psittacidi appartiene all'ordine degli Psittaciformi e comprende 7 sottofamiglie con 79 generi e 326 specie il cui carattere distintivo è il "becco ricurvo". Solo il continente europeo non annovera specie indigene, ma la sempre più crescente diffusione degli Psittacidi obbliga il medico veterinario ad ampliare le proprie conoscenze. L'anestesia di un pappagallo può essere richiesta per procedure molto semplici quali un radiogramma od una medicazione. Tuttavia, le notizie bibliografiche relative all'anestesia sono scarse, lacunose e spesso riguardano solo le specie di maggior valore e dimensioni. È importante studiare e proporre protocolli anestesiológicos che prevedano l'impiego di farmaci comunemente diffusi sul mercato e che risultino sicuri, efficaci e maneggevoli. Lo scopo del lavoro è valutare l'efficacia di tre protocolli anestesiológicos su specie comunemente diffuse sul mercato italiano.

Materiali e metodi

Quaranta pappagalli, diversi per specie, età e peso, sono stati sottoposti ad anestesia generale per determinarne il sesso per via laparoscopica (Tabella 1).

Specie	Peso (kg)	Età (mesi)	Sesso
<i>Psittacula cyanocephala</i>	0,07	6	m
<i>Psittacula cyanocephala</i>	0,07	6	m
<i>Psittacula cyanocephala</i>	0,07	6	f
<i>Psittacula cyanocephala</i>	0,06	6	m
<i>Psittacula cyanocephala</i>	0,08	6	m
<i>Psittacula krameri</i>	0,1	12	m
<i>Psittacula krameri</i>	0,13	24	f
<i>Psittacula krameri</i>	0,12	24	f
<i>Psittacula krameri</i>	0,12	36	m
<i>Psittacula krameri</i>	0,1	24	f
<i>Pyrrura frontalis</i>	0,09	24	m
<i>Pyrrura frontalis</i>	0,07	18	m
<i>Pyrrura frontalis</i>	0,05	12	m
<i>Pyrrura egregia</i>	0,21	36	f
<i>Pyrrura egregia</i>	0,2	36	f
<i>Pyrrura egregia</i>	0,2	36	f
<i>Aratinga auricapilla</i>	0,085	48	m
<i>Aratinga auricapilla</i>	0,073	48	m
<i>Aratinga solstitialis</i>	0,09	36	f
<i>Aratinga solstitialis</i>	0,1	24	m
<i>Aratinga solstitialis</i>	0,09	36	m
<i>Cyanoliseus patagonicus</i>	0,26	24	f
<i>Cyanoliseus patagonicus</i>	0,25	24	N.D.
<i>Cyanoliseus patagonicus</i>	0,25	24	m
<i>Cyanoliseus patagonicus</i>	0,22	24	f
<i>Myopsitta monachus</i>	0,095	24	f
<i>Myopsitta monachus</i>	0,075	48	N.D.
<i>Myopsitta monachus</i>	0,09	36	f
<i>Myopsitta monachus</i>	0,1	48	m
<i>Myopsitta monachus</i>	0,108	36	m
<i>Myopsitta monachus</i>	0,1	36	f
<i>Myopsitta monachus</i>	0,1	36	m
<i>Nymphicus hollandicus</i>	0,1	5	m
<i>Nymphicus hollandicus</i>	0,09	5	m
<i>Nymphicus hollandicus</i>	0,085	5	N.D.
<i>Nymphicus hollandicus</i>	0,08	5	m
<i>Nymphicus hollandicus</i>	0,09	2,5	N.D.
<i>Nymphicus hollandicus</i>	0,085	2,5	m
<i>Nymphicus hollandicus</i>	0,1	5	m
<i>Nymphicus hollandicus</i>	0,115	5	f

Tabella 1: animali esaminati (sesso determinato per via laparoscopica).

N.D. = sesso non diagnosticato

Dopo un digiuno preventivo completo di 6 ore, in gabbia sono stati valutati le condizioni del piumaggio, lo stato del sensorio e la frequenza respiratoria. Dopo contenzione manuale con guanti, sono stati valutati temperatura endocloacale, frequenza cardiaca (con fonendoscopio), stato di nutrizione e tonicità muscolare (tramite palpazione dei muscoli pettorali) secondo lo schema illustrato in figura 1.

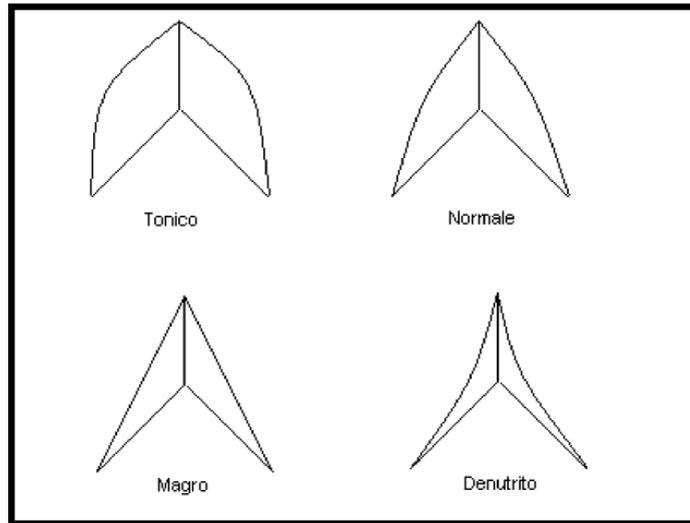


Figura 1: profilo dello sterno e relativo grado di tonicità dei muscoli pettorali.

Tutti i soggetti sono risultati idonei alle procedure anestesiológicas e chirurgiche.

I pappagalli sono stati suddivisi in 3 gruppi con diversi protocolli d'anestesia:

- gruppo A (16 soggetti): induzione e mantenimento con isofluorano (Isoflurane®), somministrato tramite mascherina;
- gruppo B (12 soggetti): premedicazione con medetomidina (Domitor®) IM, induzione e mantenimento con isofluorano (Isoflurane®) somministrato tramite mascherina, antagonizzazione degli effetti della medetomidina con atipamezolo (Antisedan®) IM in rapporto 1:5 al termine delle procedure chirurgiche;
- gruppo C (12 soggetti): induzione e mantenimento con miscela di medetomidina (Domitor®) e ketamina (Imalgene1000®) IM, antagonizzazione degli effetti della medetomidina con atipamezolo IM in rapporto 1:5 al termine delle procedure chirurgiche.

Ciascun gruppo è stato suddiviso in sottogruppi a seconda delle posologie:

- gruppo A: sottogruppi A1, A2, A3 e A4 secondo le concentrazioni iniziali di isofluorano (tabella 2);
- gruppo B: sottogruppi B1, B2, B3 e B4 secondo la dose di medetomidina utilizzata

- per la premedicazione (tabella 3);
- gruppo C: sottogruppi C1, C2, C3 e C4 secondo le dosi di medetomidina e ketamina somministrate; in caso di piano anestesiológico inadeguato alle procedure è stato somministrato isofluorano in maschera (tabella 4).

Sottogruppo	Specie	% Isofluorano inizio induzione
A1	<i>Psittacula cyanocephala</i>	4
A2	<i>Psittacula cyanocephala</i>	3,5
	<i>Psittacula cyanocephala</i>	3,5
	<i>Psittacula cyanocephala</i>	3,5
	<i>Pyrrura frontalis</i>	3,5
	<i>Pyrrura frontalis</i>	3,5
A3	<i>Psittacula cyanocephala</i>	3
	<i>Pyrrura frontalis</i>	3
	<i>Psittacula krameri</i>	3
	<i>Cyanoliseus patagonicus</i>	3
	<i>Cyanoliseus patagonicus</i>	3
	<i>Cyanoliseus patagonicus</i>	3
	<i>Aratinga solstitialis</i>	3
	<i>Aratinga solstitialis</i>	3
	<i>Aratinga solstitialis</i>	3
A4	<i>Psittacula krameri</i>	2,5

Tabella 2: suddivisione del gruppo A in sottogruppi secondo le concentrazioni iniziali di isofluorano.

Sottogruppo (medetomidina)	Specie	% Isofluorano induzione
B1 (100 µgr/kg)	<i>Pyrrura egregia</i>	3
	<i>Pyrrura egregia</i>	3
	<i>Pyrrura egregia</i>	2
B2 (250 µgr/kg)	<i>Psittacula cyanocephala</i>	2,5
	<i>Pyrrura frontalis</i>	2,5
	<i>Pyrrura frontalis</i>	2
B3 (300 µgr/kg)	<i>Psittacula krameri</i>	2,5
	<i>Aratinga auricapilla</i>	2,5
	<i>Aratinga auricapilla</i>	3
	<i>Cyanoliseus patagonicus</i>	2
	<i>Nymphicus hollandicus</i>	2
B4 (450 µgr/kg)	<i>Nymphicus hollandicus</i>	2

Tabella 3: suddivisione del gruppo B in sottogruppi secondo le posologie di medetomidina e concentrazioni di isofluorano usate per l'induzione.

Sottogruppo	Specie	Medetomidina. ($\mu\text{gr}/\text{kg}$)	Ketamina (mg/kg)	Induzione isofluorano
C1	<i>Myopsitta monachus</i>	100	10	Si
	<i>Nymphicus hollandicus</i>	100	10	Si
	<i>Nymphicus hollandicus</i>	100	10	Si
	<i>Nymphicus hollandicus</i>	100	10	Si
C2	<i>Myopsitta monachus</i>	100	20	Si
C3	<i>Myopsitta monachus</i>	200	20	No
	<i>Myopsitta monachus</i>	200	20	No
	<i>Myopsitta monachus</i>	200	20	No
	<i>Myopsitta monachus</i>	200	20	No
	<i>Nymphicus hollandicus</i>	200	20	No
	<i>Nymphicus hollandicus</i>	200	20	No
	<i>Nymphicus hollandicus</i>	200	20	No
C4	<i>Myopsitta monachus</i>	200	10	No

Tabella 4: suddivisione del gruppo C in sottogruppi secondo le posologie di medetomidina e ketamina ed eventuale somministrazione di isofluorano per il raggiungimento di un piano d'anestesia chirurgico.

Tutte le iniezioni sono state effettuate per via intramuscolare nei muscoli pettorali tramite siringa da insulina. Dopo premedicazione i soggetti sono stati posti in gabbia singola mantenuta in penombra su tappetino termico a 42°C.

Per la somministrazione dell'anestetico inalatorio è stato impiegato un circuito a non-rirespirazione di tipo T di Ayre collegato a mascherina. Il pallone di riserva era costituito da un pollice di guanto in lattice. Il flusso d'ossigeno è stato 0,8 l/min.

Per valutare l'effetto della premedicazione, la qualità dell'induzione, del mantenimento e del risveglio sono stati considerati i seguenti parametri:

- gruppo A: frequenza cardiaca, respiratoria e temperatura endocloacale prima dell'induzione, concentrazione isofluorano ad inizio e fine induzione, tempo d'induzione, presenza di effetti indesiderati durante l'induzione (apnea, vocalizzazioni, tremori, ecc.), concentrazione isofluorano per mantenimento, posizione becco (aperto o chiuso), frequenza cardiaca, respiratoria e temperatura endocloacale dopo l'induzione, frequenza cardiaca, respiratoria e temperatura endocloacale a fine anestesia, tempo per il recupero completo dall'anestesia ed eventuali fenomeni patologici durante il risveglio (tremori, rigidità, vocalizzazioni, ecc.);

- gruppi B e C: frequenza cardiaca, respiratoria e temperatura endocloacale prima della somministrazione IM, tempo intercorso fra la somministrazione IM della medetomidina con o senza ketamina e il suo effetto massimo, qualità della sedazione data dalla medetomidina (reclinamento capo, ammiccamento, perdita stazione, ali abbassate, ecc.), frequenza cardiaca, respiratoria e temperatura endocloacale all'effetto massimo della medetomidina con o senza ketamina, concentrazione

isofluorano ad inizio e fine induzione nel gruppo B (se necessaria nel gruppo C), concentrazione isofluorano mantenimento, frequenza cardiaca, respiratoria e temperatura endocloacale dopo l'induzione ed a fine anestesia, tempo per il recupero completo dall'anestesia ed eventuali effetti indesiderati durante il risveglio (tremori, rigidità, vocalizzazioni, ecc.).

Per la chirurgia è stato utilizzato un bisturi con punta da 11 mm, un endoscopio con ottica rigida di diametro 2,7 mm, lunga 19 cm e 25° di angolo ottico introdotta attraverso una camicia di 3 mm.

Dopo l'induzione, il pappagallo è stato posto in decubito laterale destro sopra un tappetino termico. Lo sterno è stato posizionato parallelamente al piano del tavolo, l'ala sinistra è stata mantenuta in estensione craniodorsale e l'arto inferiore sinistro esteso caudalmente. Il punto di repere per l'introduzione dell'endoscopio è costituito caudalmente dalla muscolatura del quadricipite femorale, cranialmente dall'ultima costa e dorsalmente dal rachide^{4,6,11}. Deplumata e disinfettata con clorexidina tale sede, si è effettuata un'incisione di pochi mm per penetrare nella cavità toraco-addominale con la sonda ottica

Al termine dell'operazione il soggetto è stato posto in decubito sternale all'interno di una gabbia posta sopra un tappetino termico.

La terapia antibiotica ha previsto la somministrazione di 3 ml di Baytril® 2,5% per litro di bevanda per 4 giorni.

Risultati

Tutti i soggetti erano in buone od ottime condizioni di salute. Il rilevamento della frequenza cardiaca prima dell'anestesia è stato difficoltoso a causa delle intense vocalizzazioni. In 4 pappagalli non è stato possibile diagnosticare il sesso a causa di una micosi profonda coinvolgente i sacchi aerei.

Gruppo A (induzione diretta con isofluorano)

Sottogruppo A1 (1 soggetto: induzione con isofluorano 4%). Partendo con una concentrazione di isofluorano del 4% si è scesi rapidamente allo 0,5% e l'induzione si è completata in 20 secondi, ma vi è stata immediatamente una breve fase apneica (10 secondi). Sospendendo l'erogazione dell'alogenato e facendo pressioni ripetute e ritmiche sulla cassa toracica, il soggetto ha ripreso a respirare. Durante l'induzione il pappagallo non ha vocalizzato né ha avuto tremori. Il mantenimento è stato ottenuto con l'1,5% di isofluorano. Per tutta la durata della procedura chirurgica (14 minuti) il pappagallo ha mantenuto il becco aperto. Sospesa l'erogazione dell'alogenato si sono stati evidenziati, dopo 30 secondi, tremori diffusi, dopo 2 minuti ha aperto gli occhi e dopo altri 30 secondi ha sollevato la testa. A 3 minuti dalla fine dell'anestesia il paziente ha recuperato la stazione eretta e ha iniziato a deambulare. Dopo 4 minuti si è arrampicato sul trespolo. I dati relativi alle frequenze cardiaca e respiratoria e alla temperatura corporea sono riportati in tabella 5.

	Preoperatoria	Postinduzione	Fine intervento
Frequenza cardiaca (bpm)	NR	280	270
Frequenza respiratoria (arm)	45	40	48
Temperatura endocloacale (°C)	42,7	NR	37,4*

Tabella 5. *Legenda: bpm = battiti per minuto; arm = atti respiratori al minuto; NR = non rilevata.*

* *per cause tecniche il paziente non è stato posizionato sul tappetino termico*

Sottogruppo A2 (5 soggetti: induzione con isofluorano 3,5%). Partendo dal 3,5% di isofluorano, l'induzione è stata completata con il $2,1 \pm 0,42$ % in $1,75 \pm 0,90$ minuti. Un pappagallo ha tentato di beccare la mascherina e 2 hanno vocalizzato ed in uno di questi si è avuta una breve apnea dopo 2,5 minuti dall'inizio dell'induzione. Non sono stati riscontrati tremori. L'anestesia è stata mantenuta con isofluorano $2,04 \pm 0,46$ %. 3 pazienti hanno mantenuto il becco aperto per tutta la durata dell'anestesia. Le procedure chirurgiche hanno avuto una durata di $9 \pm 5,12$ minuti. Sospesa l'erogazione dell'alogenato, l'apertura degli occhi si è avuta a $0,98 \pm 0,79$ minuti, il sollevamento della testa a $1,9 \pm 1,14$ minuti, il recupero della stazione eretta a $3,8 \pm 0,83$ minuti, la deambulazione a $4,9 \pm 1,34$ minuti e il recupero completo dopo $6,74 \pm 2,48$ minuti. I dati relativi alle frequenze cardiaca e respiratoria e alla temperatura corporea sono riportati in tabella 6.

	Preoperatoria	Postinduzione	Fine intervento
Frequenza cardiaca (bpm)	300*	$282 \pm 38,99$	$274 \pm 36,47$
Frequenza respiratoria (arm)	$48,6 \pm 4,67$	$58,6 \pm 12,84$	$56 \pm 9,70$
Temperatura endocloacale (°C)	$42,14 \pm 0,13$	$41,56 \pm 0,41$	$40,7 \pm 0,60$

Tabella 6. * *a causa delle vocalizzazioni è stato possibile rilevare la frequenza in un solo pappagallo*

Sottogruppo A3 (9 soggetti: induzione con isofluorano 3%). Partendo dal 3% di isofluorano, l'induzione è stata completata in tutti i pazienti con il 2% in $1,84 \pm 1,33$ minuti. Non sono state registrate apnee, ma 2 hanno vocalizzato. L'anestesia è stata mantenuta con $1,88 \pm 0,24$ % di isofluorano. Il becco è rimasto chiuso in tutti i soggetti, ma in uno si sono avuti fenomeni di rigidità delle ali di 12 secondi. Le procedure hanno avuto una durata di $11,89 \pm 9,94$ minuti. Il risveglio completo si è avuto dopo $7,56 \pm 3,43$ minuti con apertura degli occhi a $2,02 \pm 1,36$ min dopo la fine dell'erogazione di isofluorano, sollevamento del capo dopo $3,04 \pm 1,76$ min, recupero della stazione eretta dopo $3,61 \pm 1,60$ min, tremori (in tutti i soggetti tranne 1) dopo $3,75 \pm 1,91$ min e deambulazione dopo $5,39 \pm 2,42$ min. Durante il risveglio un soggetto ha vocalizzato e un altro ha mostrato dei movimenti involontari di apertura e chiusura del becco un minuto dopo la fine dell'erogazione dell'alogenato. I dati relativi alle frequenze cardiaca e respiratoria e alla temperatura corporea sono riportati in tabella 7.

	Preoperatoria	Postinduzione	Fine intervento
Frequenza cardiaca (bpm)	NR	236,67 ± 49,24	236,67 ± 45,28
Frequenza respiratoria (arm)	44,1 ± 5,06	55,11 ± 16,34	48,33 ± 23,11
Temperatura endocloacale (°C)	41,72 ± 0,71°	41,02 ± 0,77°	40,05 ± 0,84°

Tabella 7.

Sottogruppo A4 (1 soggetto: induzione con isofluorano 2,5%). Iniziando con il 2,5% di isofluorano, l'induzione è stata completata al 1,5% in 3 minuti. Non sono stati riscontrati vocalizzazioni, tremori e apnee. Durante l'induzione si è avuto irrigidimento degli arti e delle ali per 10 secondi. L'anestesia è stata mantenuta con isofluorano 1,7% e il becco è rimasto chiuso per tutta la durata dell'intervento (4 minuti). Sospesa l'erogazione dell'alogenato, si sono avuti tremori generalizzati dopo 1 minuto, apertura degli occhi dopo 3 minuti, sollevamento della testa dopo 3,2 minuti, recupero della stazione eretta dopo 3,5 minuti, deambulazione dopo 6 minuti e recupero completo dopo 8 minuti. Il pappagallo ha mantenuto le penne arruffate fino alla dimissione. I dati relativi alle frequenze cardiaca e respiratoria e alla temperatura corporea sono riportati in tabella 8.

	Preoperatoria	Postinduzione	Fine intervento
Frequenza cardiaca (bpm)	NR	260	260
Frequenza respiratoria (arm)	60	60	72
Temperatura endocloacale (°C)	40,9	NR	39,6

Tabella 8.

Gruppo B (premedicazione con medetomidina, induzione e mantenimento con isofluorano)

Sottogruppo B1 (3 soggetti: medetomidina 100 µgr/kg). 2 minuti dopo la somministrazione di medetomidina un soggetto ha arruffato le penne, dopo 4 min un altro ha aperto le ali per mantenere l'equilibrio. Tutti i soggetti hanno chiuso gli occhi (9 ± 1,41 min) e reclinato il capo (9,33 ± 1,15 min). L'effetto massimo è stato raggiunto dopo 10 minuti. Nessun paziente ha perso la stazione e raggiunto il decubito sternale mentre tutti hanno vocalizzato al momento della cattura per l'induzione, fatta con isofluorano partendo dal 2,67 ± 0,58 % e ultimandola al 2% in 2 ± 0,87 minuti. Il mantenimento è stato ottenuto con isofluorano 2,23 ± 0,46%. Durante il mantenimento, un soggetto ha tenuto il becco aperto. Le procedure hanno avuto una durata di 9 ± 5,58 minuti. Sospeso l'alogenato e somministrato l'atipamezolo, sono stati registrati: apertura occhi e sollevamento testa a 2,5 ± 2,29 min, recupero della stazione eretta a 4,33 ± 1,53 min, deambulazione a 5,33 ± 1,53 e recupero completo a 6,67 ± 1,53 min. I dati relativi alle frequenze cardiaca e respiratoria e alla temperatura corporea sono riportati in tabella 9.

	Preoperatoria	Postinduzione	Fine intervento
Frequenza cardiaca (bpm)	NR	205,67 ± 22,50	235 ± 22,91
Frequenza respiratoria (arm)	41,67 ± 1,53	45,33 ± 16,17	41,33 ± 19,73
Temperatura endocloacale (°C)	42,27 ± 0,15	NR	40,2 ± 0,56

Tabella 9.

Sottogruppo B2 (3 soggetti: medetomidina 250 µgr/kg). Si è avuto: reclinamento del capo dopo 5 minuti dalla somministrazione di medetomidina, chiusura degli occhi dopo 7 ± 2,64 min, perdita della stazione dopo 9,33 ± 1,15 min ed apertura delle ali dopo 10 ± 4 min. Un soggetto ha arruffato le penne dopo 10 minuti. L'effetto massimo è stato raggiunto dopo 11,33 ± 2,31 min. Nessun soggetto ha raggiunto il decubito sternale e tutti hanno vocalizzato al momento della cattura per la somministrazione di isofluorano. L'induzione è stata ultimata in 1,57 ± 1,29 min partendo dal 2,33 ± 0,29 % di alogenato arrivando all'1,66 ± 0,58 %. Durante l'induzione un soggetto è andato in apnea per 10 secondi e un altro ha mostrato fenomeni eccitativi (sbattimento ali). In tutti l'anestesia è stata mantenuta con isofluorano 1,5% per 8,67 ± 1,15 min. dopo antagonizzazione degli effetti della medetomidina con atipamezolo sono stati rilevati: apertura occhi dopo 2,5 ± 1,80 min, tremori generalizzati dopo 2,83 ± 2,03 min, sollevamento testa dopo 3,5 ± 2,78 min, recupero della stazione eretta dopo 4,83 ± 3,88 min e deambulazione dopo 5,67 ± 2,51 min. Il recupero completo è stato raggiunto dopo 9,33 ± 4,50 min. I dati relativi alle frequenze cardiaca e respiratoria e alla temperatura corporea sono riportati in tabella 10.

	Preoperatoria	Postinduzione	Fine intervento
Frequenza cardiaca (bpm)	NR	134 ± 15,09	110 ± 36,05
Frequenza respiratoria (arm)	55,33 ± 6,43	18 ± 3,46	16,33 ± 1,53
Temperatura endocloacale (°C)	42,17 ± 0,15	NR	38,9 ± 0,66

Tabella 10.

Sottogruppo B3 (5 soggetti: medetomidina 300 µgr/kg). Dopo somministrazione di medetomidina sono stati registrati: arruffamento delle penne (2 minuti, un soggetto), reclinamento del capo (4,8 ± 1,92 min), perdita della stazione (5 ± 2,82 min), chiusura degli occhi (5,5 ± 2,18 min) e apertura delle ali (6 ± 2,82 min, 4 soggetti). L'effetto massimo è stato raggiunto dopo 8,4 ± 1,67 min, ma nessun pappagallo ha raggiunto il decubito sternale. Tutti hanno vocalizzato dopo la cattura per l'induzione, ma l'entità delle manifestazioni è stata più contenuta permettendo il rilevamento dei parametri clinici. L'induzione è stata iniziata con isofluorano 2,4 ± 0,42 % e conclusa all'1,94 ± 0,13 %. I soggetti sono stati indotti in 0,71 ± 0,58 min e solo in uno si è avuta apnea dopo 0,75 minuti durata 10 secondi. L'anestesia è stata

mantenuta con isofluorano $1,58 \pm 0,37$ % per $6,8 \pm 3,56$ min. Dopo somministrazione di atipamezolo si sono registrati: tremori ($4,3 \pm 2,63$ min), apertura degli occhi ($4,3 \pm 3,56$ min), sollevamento della testa ($4,7 \pm 3,83$ min), recupero della stazione eretta ($6,4 \pm 4,39$ min) e deambulazione ($7,4 \pm 4,39$ min). Il recupero completo si è avuto dopo $8,9 \pm 4,61$ min. Un pappagallo ha avuto degli evidenti movimenti involontari con le ali dopo 31 minuti dalla somministrazione di atipamezolo mentre un altro aveva ancora le penne arruffate dopo 165 minuti. I dati relativi alle frequenze cardiaca e respiratoria e alla temperatura corporea sono riportati in tabella 11.

	Preoperatoria	Postinduzione	Fine intervento
Frequenza cardiaca (bpm)	NR	$152 \pm 64,19$	$137,6 \pm 49,69$
Frequenza respiratoria (arm)	$46,8 \pm 7,69$	$42,8 \pm 26,97$	$34 \pm 17,78$
Temperatura endocloacale (°C)	$42,16 \pm 0,26$	NR	$38,92 \pm 0,85$

Tabella 11. All'effetto massimo della medetomidina sono stati registrati: frequenza cardiaca $146 \pm 63,54$ bpm, frequenza respiratoria 40 ± 24 arm e temperatura endocloacale $41,3 \pm 0,99$ °C.

Sottogruppo B4 (1 soggetto: medetomidina 450 µgr/kg). Dopo la somministrazione di medetomidina si è avuto: chiusura degli occhi e reclinamento del capo dopo 4 minuti, perdita della stazione con apertura delle ali dopo 6 minuti e arruffamento delle penne dopo 8 minuti (effetto massimo), ma non ha raggiunto il decubito sternale. L'induzione è stata fatta con isofluorano al 2% in 30 secondi e l'anestesia è stata mantenuta con l'1% per 4 minuti. Sospesa l'erogazione dell'alogenato e somministrato l'atipamezolo si sono registrati tremori dopo 20 secondi, apertura degli occhi e sollevamento del capo dopo 1 min e recupero della stazione eretta e deambulazione dopo 2 min. Il risveglio è stato completato in 2,5 min. I dati relativi alle frequenze cardiaca e respiratoria e alla temperatura corporea sono riportati in tabella 12.

	Preoperatoria	Postinduzione	Fine intervento
Frequenza cardiaca (bpm)	450	135	120
Frequenza respiratoria (arm)	60	24	24
Temperatura endocloacale (°C)	42,3	NR	39,6

Tabella 12. All'effetto massimo della medetomidina sono stati registrati: frequenza cardiaca 258 bpm, frequenza respiratoria 20 arm e temperatura endocloacale 40,5°C.

Gruppo C (medetomidina + ketamina)

Sottogruppo C1 (4 soggetti: medetomidina 100 µgr/kg + ketamina 10 mg/kg). Dopo la somministrazione della miscela sono stati riscontrati: reclinamento del

capo e chiusura degli occhi a $4,75 \pm 1,71$ min, apertura delle ali a $5,5 \pm 1$ min, perdita della stazione a $6,75 \pm 2,22$ min, arruffamento delle piume (1 soggetto dopo 8 minuti) e decubito sternale a $10 \pm 1,63$ min. Nessun soggetto ha perso il riflesso podale per cui tutti sono stati indotti con isofluorano (1%) in $3 \pm 1,15$ min. L'anestesia è stata mantenuta con isofluorano $0,86 \pm 0,16$ % per $7,25 \pm 4,5$ min. Sospesa l'erogazione dell'alogenato e somministrato atipamezolo sono stati registrati: apertura degli occhi dopo $4 \pm 2,94$ min, tremori generalizzati (3 soggetti) dopo $4,67 \pm 3,05$ min, sollevamento della testa dopo $7,75 \pm 10,24$ min, recupero della stazione eretta dopo $12,25 \pm 16,56$ min e deambulazione dopo $15 \pm 17,33$ min. Il recupero completo è stato ottenuto dopo $28,5 \pm 35,12$ min. Durante il risveglio un pappagallo si è rotolato ripetutamente per 5 minuti su se stesso. I dati relativi alle frequenze cardiaca e respiratoria e alla temperatura corporea sono riportati in tabella 13.

	Preoperatoria	Postinduzione	Fine intervento
Frequenza cardiaca (bpm)	$400 \pm 40,82$	$157,5 \pm 43,49$	$167,5 \pm 39,47$
Frequenza respiratoria (arm)	$59,25 \pm 14,17$	$11,75 \pm 7,13$	$18 \pm 6,32$
Temperatura endocloacale (°C)	$42,22 \pm 0,21$	$40,47 \pm 1,08$	$39,73 \pm 0,75$

Tabella 13. All'effetto massimo della miscela medetomidina/ketamina sono stati registrati: frequenza cardiaca $165,5 \pm 30,35$ bpm, frequenza respiratoria $29,75 \pm 12,28$ arm e temperatura endocloacale $41,2 \pm 0,42$ °C.

Sottogruppo C2 (1 soggetto: medetomidina 100 µgr/kg + ketamina 20 mg/kg). Dopo 2 minuti ha reclinato il capo e chiuso gli occhi, dopo 4 minuti ha aperto le ali, dopo 5 minuti ha perso la stazione eretta e dopo 7 minuti ha raggiunto il decubito sternale. Il riflesso podale è stato mantenuto per cui è stato indotto con isofluorano 1% in 3 minuti e mantenuto con l'alogenato 0,75% per 11 minuti. Sospesa l'erogazione di isofluorano e somministrato atipamezolo, abbiamo riscontrato: tremori diffusi dopo 2 minuti, apertura degli occhi e sollevamento della testa dopo 14 minuti, recupero della stazione eretta dopo 93 minuti e deambulazione dopo 123 minuti. Il recupero completo è stato ottenuto dopo 138 minuti. I dati relativi alle frequenze cardiaca e respiratoria e alla temperatura corporea sono riportati in tabella 14.

	Preoperatoria	Postinduzione	Fine intervento
Frequenza cardiaca (bpm)	400	190	140
Frequenza respiratoria (arm)	54	32	12
Temperatura endocloacale (°C)	41,2	NR	40,3

Tabella 14. All'effetto massimo della miscela medetomidina/ketamina sono stati registrati: frequenza cardiaca 200 bpm, frequenza respiratoria 32 arm e temperatura endocloacale 41°C.

Sottogruppo C3 (6 soggetti: medetomidina 200 µgr/kg + ketamina 20 mg/kg). Dopo la somministrazione della miscela abbiamo riscontrato: chiusura degli occhi ($2 \pm 1,1$ min), reclinamento del capo ($2,41 \pm 1,43$ min), apertura delle ali ($2,65 \pm 2,36$ min), perdita della stazione ($2,91 \pm 1,91$ min), decubito sternale ($5,83 \pm 1,60$ min) e perdita del riflesso podale ($7,83 \pm 2,99$ min). Non è stato necessario somministrare isofluorano; la procedura chirurgica ha avuto una durata di $10,33 \pm 6,02$ min. Dopo somministrazione di atipamezolo abbiamo riscontrato: apertura degli occhi a $8,83 \pm 4,49$ min, tremori generalizzati (5 soggetti) a $10,6 \pm 5,64$ min, sollevamento della testa a $14,83 \pm 5,98$ min, recupero della stazione eretta a $43,5 \pm 32,70$ min e deambulazione a $74,17 \pm 41,30$ min. Il recupero completo è stato ottenuto dopo $190 \pm 24,36$ min. In 5 pappagalli si è avuta, durante il risveglio, una notevole rigidità degli arti, della testa e della coda. I dati relativi alle frequenze cardiaca e respiratoria e alla temperatura corporea sono riportati in tabella 15.

	Preoperatoria	Postinduzione*	Fine intervento
Frequenza cardiaca (bpm)	405 ± 61,24	200 ± 25,30	184,33 ± 55,43
Frequenza respiratoria (arm)	60 ± 4,19	25,33 ± 14,24	17,33 ± 15,88
Temperatura endocloacale (°C)	42,15 ± 0,14	41,11 ± 0,51	40,78 ± 0,82

Tabella 15. *parametri rilevati all'effetto massimo della miscela medetomidinal/ketamina.

Sottogruppo C4 (1 soggetto: medetomidina 200 µgr/kg + ketamina 10 mg/kg). 4 minuti dopo la somministrazione della miscela abbiamo riscontrato la chiusura degli occhi, il reclinamento del capo dopo 6 minuti, l'apertura delle ali dopo 8 minuti con successiva perdita della stazione (9 minuti), decubito sternale (11 minuti) e scomparsa del riflesso podale dopo 12 minuti. Non è stato necessario utilizzare isofluorano durante i 10 minuti della procedura chirurgica. Somministrato l'atipamezolo abbiamo riscontrato tremori diffusi e apertura degli occhi dopo 7 minuti, sollevamento della testa dopo 37 minuti, recupero della stazione dopo 62 minuti, deambulazione dopo 85 minuti e recupero completo dopo 177 minuti. Vi è stata notevole rigidità di arti, collo e coda durante il risveglio. I dati relativi alle frequenze cardiaca e respiratoria e alla temperatura corporea sono riportati in tabella 16.

	Preoperatoria	Postinduzione*	Fine intervento
Frequenza cardiaca (bpm)	350	258	120
Frequenza respiratoria (arm)	60	20	24
Temperatura endocloacale (°C)	42,3	40,5	39,6

Tabella 16. *parametri rilevati all'effetto massimo della miscela medetomidinal/ketamina.

Discussione

La bibliografia inerente i protocolli anestesiológicos degli Psittacidi è scarsa e non esaustiva. In questo studio sono state considerate le specie più diffuse di pappagalli e anche meno trattate. Abbiamo scelto tre protocolli anestesiológicos: 1) esclusivamente inalatorio per il gruppo A; 2) premedicazione con medetomidina seguita da anestesia inalatoria per il gruppo B; 3) totalmente iniettabile per il gruppo C. Tutti i protocolli si sono rivelati sicuri ed efficaci, garantendo sempre di raggiungere un piano adeguato di anestesia.

Visita clinica e gestione preanestesiologica

Gli Psittacidi sono facilmente stressabili perciò prima di procedere alla visita anestesiológica è bene osservarli nella loro gabbia e ad una certa distanza per non farli sentire minacciati^{2,5}. Il digiuno preoperatorio è consigliato¹⁷ per evitare fenomeni di rigurgito, ma occorre anche preservare le scarse riserve glucogenetiche del fegato degli uccelli. In bibliografia abbiamo diverse informazioni piuttosto difformi: da qualche istante prima dell'anestesia⁸ fino a 2^{9,15} e 4 ore¹⁶. Noi abbiamo adottato un digiuno di 6 ore, rivelatosi idoneo e sicuro.

Le vocalizzazioni di alcuni soggetti hanno impedito il rilevamento della frequenza cardiaca preoperatoria. I soggetti più tranquilli appartenevano alle specie *Nymphicus hollandicus* e *Myopsitta monachus*. Questo potrebbe essere legato alla notevole docilità dei primi in quanto soggetti altamente selezionati, ma per i secondi probabilmente l'estraneità del luogo ha permesso un contenimento insolitamente silenzioso, essendo i Parrocchetti monaci (*M. monachus*) caratteristici per le alte strida emesse quando un intruso entra nel loro territorio.

Premedicazione

Solo i soggetti del gruppo B sono stati premedicati con medetomidina.

La medetomidina è stata utilizzata da Sandmeier²⁶ per l'immobilizzazione a breve termine di Amazzoni (gen. *Amazona*) a 1,5 e 2 mg/kg IM ottenendo una sedazione inadeguata. Noi abbiamo somministrato 4 differenti posologie di medetomidina IM: 100 μ gr/kg in 3 soggetti (sottogruppo B1), 250 μ gr/kg in 3 soggetti (sottogruppo B2), 300 μ gr/kg in 5 soggetti (sottogruppo B3) e 450 μ gr/kg in 1 soggetto (sottogruppo B4) e indotto l'anestesia con isofluorano. L'effetto massimo della medetomidina si è avuto dopo 10 minuti nei sottogruppi B1 e B2 e dopo 8 minuti negli altri due sottogruppi evidenziando una riduzione del tempo di premedicazione dose-dipendente. Il grado di sedazione raggiunto, in accordo con altri studi^{11,26}, non è stato soddisfacente poiché tutti i soggetti del gruppo B, indipendentemente dalla posologia (sottogruppo B1, B2, B3 e B4), al momento del contenimento per l'induzione con isofluorano, hanno vocalizzato e tentato di mordere il guanto dell'operatore.

Induzione

Il farmaco d'elezione per l'induzione dell'anestesia nei volatili è l'isofluorano^{2,17}. È stato dimostrato che l'alotano ha effetti depressivi più marcati sull'apparato cardiaco, respiratorio e sulla termoregolazione¹³. Quandt^{22,23} ha confrontato l'isofluorano con il sevofluorano dimostrando che il secondo ha tempi d'induzione più lunghi pur essendo un agente sicuro e maneggevole, in accordo con Alves-Nicolau¹. Abbiamo, quindi, voluto verificare gli effetti dell'isofluorano come agente d'induzione sia usato singolarmente sia dopo premedicazione con medetomidina e, se necessario, anche dopo la somministrazione di una miscela di medetomidina-ketamina.

L'induzione è stata più rapida per il gruppo A (media $0,65 \pm 0,4$ minuti), mentre i gruppi B e C hanno avuto tempi più lunghi: $1,23 \pm 0,96$ minuti per il B e $7,75 \pm 2,6$ minuti per il 60% dei soggetti del gruppo C. Per il 40% dei soggetti del gruppo C è stato necessario somministrare isofluorano 1% per raggiungere un piano di anestesia chirurgico.

I tempi d'induzione del gruppo A erano correlati alla concentrazione iniziale di isofluorano poiché maggiore era la concentrazione iniziale minore era il tempo d'induzione: il sottogruppo A4 ha richiesto un tempo medio di induzione di 3 minuti con il 2,5% di isofluorano, mentre l'A3 ne ha richiesti $1,83 \pm 1,33$ con il 3% di isofluorano. L'A2 è sceso a $1,75 \pm 0,9$ con il 3,5% di isofluorano e l'A1 è arrivato a 0,33 minuti con il 4% di isofluorano.

Le concentrazioni di isofluorano utilizzate e i dati rilevati sono in linea con quelli riportati in bibliografia^{3,7,8,9,12,13,14,16,19,21,24}.

Nel gruppo B i tempi di induzione si sono ridotti in maniera dose-dipendente all'aumentare della posologia di medetomidina somministrata in fase di premedicazione: con $100 \mu\text{gr}/\text{kg}$ di medetomidina l'induzione con isofluorano è stata completata in $2 \pm 0,87$ minuti mentre con $450 \mu\text{gr}/\text{kg}$ in $0,7 \pm 0,58$ minuti. Questo dimostra che la medetomidina può essere utilizzata in associazione all'isofluorano per facilitare e velocizzare l'induzione¹⁷.

La somministrazione di isofluorano 1% in maschera (induzione in $3 \pm 1,15$ minuti) si è resa necessaria per i soggetti trattati con l'associazione medetomidina $100 \mu\text{gr}/\text{kg}$ e ketamina $10 \text{ mg}/\text{kg}$ (sottogruppo C1) e $20 \text{ mg}/\text{kg}$ (sottogruppo C2) poiché tali miscele non hanno indotto un piano d'anestesia chirurgico. I dati ottenuti sono difforni da quanto segnalato da André² secondo cui una miscela di ketamina $3-7 \text{ mg}/\text{kg}$ e medetomidina $75-150 \mu\text{gr}/\text{kg}$ è sufficiente ad indurre un piano d'anestesia chirurgico. I dosaggi utilizzati per i sottogruppi C1 e C2 possono essere utilizzati per ottenere sedazione ma non anestesia, come riportato anche da Krautwald-Junghans¹⁵. I nostri risultati dimostrano la piena compatibilità, sicurezza ed efficacia tra medetomidina, ketamina e isofluorano.

Per raggiungere un piano d'anestesia chirurgico è necessario utilizzare almeno $200 \mu\text{gr}/\text{kg}$ di medetomidina associata a $10-20 \text{ mg}/\text{kg}$ di ketamina^{18,27}. Questo protocollo comporta tempi d'induzione più lunghi rispetto all'impiego di isofluorano perché la somministrazione di agenti iniettivi per via IM richiede tempi maggiori per raggiungere il SNC²⁰. I tempi rilevati (sottogruppi C3 e C4) sono notevolmente

superiori a quelli riportati da Mauthe von Degerfeld¹⁸. Questo è, probabilmente, da attribuire alle diversità esistenti tra le specie e le condizioni dei soggetti esaminati.

Il gruppo B ha richiesto concentrazioni di isofluorano inferiori per l'induzione rispetto al gruppo A, dimostrando uno "sparing-effect" di questo gas se associato ai protocolli iniettabili, come già segnalato per il butorfanolo nei *Cacatua* (Gen. *Cacatua*)⁷. Inoltre, tanto maggiore era la dose di medetomidina tanto minore era la concentrazione di isofluorano necessaria per l'induzione (100 $\mu\text{gr}/\text{kg}$ di medetomidina hanno permesso un'induzione con 2,67% di isofluorano mentre 450 $\mu\text{gr}/\text{kg}$ con il 2%). Questo conferma l'efficacia della medetomidina nel ridurre il dosaggio di isofluorano necessario per l'induzione¹⁷.

Lo "sparing-effect" si è verificato anche nei soggetti dei sottogruppi C1 e C2 permettendo di abbassare la concentrazione iniziale di isofluorano fino all'1%.

Durante l'induzione sono stati rilevati casi di apnea nel gruppo A e nel gruppo B. Il primo caso si è verificato nell'A1 e ha avuto una durata di 10 secondi, mentre il secondo è avvenuto nell'A2 e si è protratto per 5 secondi. Un soggetto del sottogruppo B2 (250 $\mu\text{gr}/\text{kg}$ di medetomidina) e uno del B3 (300 $\mu\text{gr}/\text{kg}$ di medetomidina), indotti con isofluorano 2,5%, hanno avuto un'apnea di breve durata e non è stato necessario ventilarli. Non vi sono in bibliografia segnalazioni relative a fenomeni di apnea dopo l'induzione con isofluorano anche a concentrazioni del 5%^{8,24}. L'apnea è probabilmente da imputare alle caratteristiche di specie essendo i soggetti da noi considerati di taglia più ridotta rispetto a quelli di altri studi e, quindi, con metabolismo molto più rapido.

Nel gruppo A si sono inoltre verificati fenomeni di vocalizzazione nel 25% dei soggetti e il 6,25% ha beccato la mascherina durante l'induzione, lasciando supporre che anche negli Psittacidi gli alogenati irritino le vie respiratorie come è stato descritto per i mammiferi²⁰. Tali reazioni non sono state riscontrate nel gruppo B lasciando ipotizzare che la medetomidina, riducendo i fabbisogni e i tempi di somministrazione di isofluorano, sia in grado di ridurre anche gli stati d'ansia dei soggetti.

Mantenimento

Il mantenimento è stato fatto, nei gruppi A e B e nei sottogruppi C1 e C2 con isofluorano, mentre nei sottogruppi C3 e C4 la miscela medetomidina-ketamina è stata sufficiente, in accordo con precedenti osservazioni^{18,25}, a mantenere un piano d'anestesia chirurgico.

Nel gruppo A la concentrazione media di isofluorano è stata di $1,89 \pm 0,33\%$ senza differenze tra i sottogruppi, mentre per il gruppo B è stata sufficiente una concentrazione media di $1,68 \pm 0,48\%$ con una riduzione dell'alogenato inversamente proporzionale alla dose di medetomidina somministrata. Questo conferma che la medetomidina permette un risparmio dell'isofluorano in maniera dose-dipendente^{7,8}. La concentrazione di isofluorano impiegata per il mantenimento dell'anestesia nel gruppo A si è dimostrata in linea con quanto riportato da altri autori^{7,8,13,14,16,19}.

Nel gruppo A il 25% dei soggetti, mantenuti con una concentrazione fra 1,5%

e 2,5%, ha tenuto il becco aperto per tutta la durata della procedura. In bibliografia non esistono segnalazioni a riguardo, ma questo è probabilmente legato all'azione irritante dell'alogenato sulle vie aeree.

I soggetti dei sottogruppi C1 e C2 sono stati mantenuti con una concentrazione media di isofluorano di $0,85 \pm 0,15\%$. Non esistendo segnalazioni bibliografiche su questo protocollo, si può supporre che medetomidina e ketamina a posologie ridotte non producano un piano anestesiológico chirurgico.

Risveglio

Il recupero è stato considerato completo quando il soggetto è stato in grado di mantenere la stazione sul trespolo.

La durata del risveglio è stata breve per il gruppo A (tempo medio di $7,11 \pm 2,96$ minuti) e per il B (tempo medio di $7,92 \pm 3,99$ minuti) senza differenze tra i sottogruppi, mentre per il gruppo C si sono avuti tempi estremamente prolungati (tempo medio di $130,75 \pm 80,76$ minuti).

I dati del gruppo A concordano con quelli di altri autori^{10,13,17} e trovano giustificazione nella grande velocità di escrezione dell'isofluorano dall'apparato respiratorio degli uccelli²⁸ legata alla bassa solubilità nel sangue, analogamente a quanto è stato descritto per i mammiferi²⁰. Inoltre, tutti i soggetti del gruppo A hanno recuperato in maniera dolce e senza effetti collaterali confermando la sicurezza dell'isofluorano per gli Psittacidi^{7,8,10,13,14,16,17,19,28}.

La somministrazione di atipamezolo nel gruppo B ha confermato l'esperienza di Sandmaier²⁶ in cui l'atipamezolo, in proporzioni di 5 volte superiori alla medetomidina, ha determinato una completa reversione degli effetti della premedicazione con rapido risveglio dei soggetti.

Tuttavia, in 3 pappagalli del gruppo B sono stati riscontrati tremori, imputabili all'atipamezolo¹⁷, e, in 2 di questi soggetti, ipotermia marcata. I tremori si sono risolti spontaneamente in tutti gli individui, ma in uno sono ricomparsi, per breve tempo, dopo 31 minuti dal risveglio completo.

Per il gruppo C si sono riscontrate differenze nei sottogruppi così riassumibili:

- sottogruppo C1: risveglio completo in $28,5 \pm 35,12$; un soggetto ha manifestato un comportamento anomalo caratterizzato da rotolamento sul fondo della gabbia per diversi minuti;
- sottogruppo C2: risveglio completo in 138 minuti senza problemi;
- sottogruppo C3: risveglio completo in $190 \pm 24,36$ minuti; tutti i soggetti hanno mostrato notevole rigidità muscolare: un soggetto ha manifestato fenomeni eccitativi (movimento delle ali e vocalizzazioni) e altri due opistotono;
- sottogruppo C4 risveglio completo in 177 minuti con notevole rigidità muscolare in tutti i soggetti.

Considerata la somministrazione di atipamezolo come nel gruppo B, il risveglio prolungato è da attribuire alla ketamina o per lenta metabolizzazione o per sovradosaggio. Anche i fenomeni eccitativi e di rigidità possono essere attribuiti alla

ketamina, analogamente a quanto riportato per i mammiferi²⁰. Gli effetti collaterali riportati sono stati segnalati anche da Mauthe von Degerfeld¹⁸ che, tuttavia, ha riscontrato tempi di risveglio sovrapponibili a quelli del protocollo totalmente inalatorio con isofluorano. La discrepanza tra i dati potrebbe trovare giustificazione nelle diversità di specie, condizioni fisiche, procedura e durata dell'anestesia. È, comunque, evidente l'estrema eterogeneità di reazione degli Psittacidi ad uno stesso protocollo^{17,20}.

Parametri clinici

La *frequenza cardiaca* rilevata prima di ogni trattamento è stata compresa tra 350 e 480 bpm, ma le forti vocalizzazioni hanno impedito l'auscultazione col fonendoscopio di alcuni pappagalli.

Raggiunto l'effetto sedativo massimo della medetomidina, la frequenza cardiaca del gruppo B si è ridotta a 170 ± 66 bpm senza differenze tra i sottogruppi. Analogo andamento è stato registrato nel gruppo C, ma il sottogruppo C1 ha avuto una diminuzione più marcata degli altri (165 ± 30 bpm contro 200 bpm). Tale bradicardia consegue alla vasodilatazione periferica causata dalla medetomidina e non è dose-dipendente²⁶.

Al termine dell'induzione, la frequenza cardiaca del gruppo A era compresa fra i 230 ed i 280 bpm senza diversità fra i sottogruppi. Analogamente a quanto descritto in bibliografia^{7,8,13}, anche nella nostra esperienza l'isofluorano ha ridotto la frequenza cardiaca.

Nei sottogruppi B2, B3, B4, C1 e C2, la frequenza cardiaca si è ulteriormente ridotta dopo l'induzione (145 battiti al minuto). Questo è legato alla somministrazione di isofluorano che, con azione depressiva miocardica^{7,8,13}, ha potenziato gli effetti bradicardizzanti della medetomidina²⁰.

Nei sottogruppi C3 e C4 il raggiungimento di un piano anestesiológico adeguato senza somministrazione di isofluorano ha permesso di mantenere la frequenza cardiaca su valori più alti (200 bpm). Questo è legato all'effetto cronotropo positivo della ketamina^{17,20}.

Al termine dell'anestesia, la frequenza cardiaca è rimasta costante o lievemente aumentata, tranne per i sottogruppi B2, B3, B4 e C2 facendo supporre un'azione depressiva sinergica ancora più marcata tra medetomidina e isofluorano.

La *frequenza respiratoria* rilevata durante la visita preanestesiologica era compresa fra 40 e 60 arm.

Nel gruppo B la medetomidina ha causato una riduzione della frequenza respiratoria dose-dipendente, ma la bradipnea è diventata importante solo per posologie superiori ai $250 \mu\text{gr}/\text{kg}$, come già segnalato in letteratura²⁶. Anche nel gruppo C si è avuta una riduzione degli atti respiratori di circa il 50%. I nostri dati concordano con quelli di Mauthe von Degerfeld¹⁸.

Il contenimento fisico per l'induzione con isofluorano ha determinato nel gruppo A, contrariamente a quanto atteso, un incremento della frequenza respiratoria di circa 16% rispetto alla visita preanestesiologica.

Al termine dell'anestesia la frequenza respiratoria si è ridotta nei gruppi B e C, mentre è rimasta invariata nel gruppo A.

Gli effetti sulla frequenza respiratoria si possono così riassumere:

- gruppo A: minima influenza dell'isofluorano¹³ e, quindi, minima depressione;
- gruppo B: per il sottogruppo B1 la frequenza raddoppiava al momento dell'effetto massimo per poi riattestarsi ai valori della visita preanestesiológica a fine anestesia mentre per gli altri sottogruppi calava drasticamente in maniera dose-dipendente confermando che la medetomidina a dosaggi superiori ai 250 $\mu\text{gr}/\text{kg}$ provoca marcata bradipnea^{11,26};
- gruppo C: calo della frequenza respiratoria indipendentemente dalle posologie da 60 arm a 20 arm, confermando l'effetto della medetomidina²⁶.

Gli uccelli hanno una *temperatura* corporea molto più alta di quella dei mammiferi e tendono a disperderla molto più facilmente¹⁷. È importante controllare l'ipotermia durante l'anestesia con tappetini riscaldati, lampade o sistemi di riscaldamento ad aria forzata²⁴.

Anche la nostra esperienza ha confermato questo: nell'unico soggetto in cui non è stato impiegato un sistema di riscaldamento, la temperatura è scesa di circa 5°C. L'utilizzo di un tappetino termico settato sui 42°C ha permesso di contenere la diminuzione della temperatura corporea entro limiti più accettabili in tutti gli altri pappagalli. Nel gruppo A si è verificato un abbassamento medio della temperatura di 1,8°C, nel B di 2,9°C e nel C 1,6°C.

La medetomidina, indipendentemente dalle posologie, ha determinato ipotermia più marcata del solo isofluorano sia per l'azione sul centro termoregolatore sia per la vasodilatazione periferica²⁰. Anche l'isofluorano in ossigeno puro, aumentando l'evaporazione nei sacchi aerei, favorisce la dispersione di calore corporeo. Infatti, nei sottogruppi C1 e C2 vi è stato un abbassamento più marcato che nei sottogruppi C3 e C4 (circa 1°C in meno). Per questi ultimi, nonostante la notevole durata della fase di risveglio, l'ipotermia si è dimostrata più contenuta, probabilmente in relazione alla buona vasotonicità conferita dalla ketamina²⁰.

Conclusioni

Il protocollo esclusivamente inalatorio è il più sicuro e maneggevole in quanto determina rapida induzione e ottimo risveglio, minimizzando gli effetti indesiderati in tutte le fasi dell'anestesia ed influenzando moderatamente sui parametri clinici.

La premedicazione con medetomidina abbassa le concentrazioni di isofluorano sia durante l'induzione, sia durante il mantenimento, consentendo una riduzione dei costi per l'alogenato, ma provoca bradicardia, bradipnea e possibili effetti collaterali al risveglio. È consigliabile utilizzarla solo in soggetti sani.

Il protocollo esclusivamente iniettabile, seppur sicuro ed efficace, è indicato qualora manchi l'attrezzatura per l'anestesia inalatoria. L'associazione di medetomidina (200 $\mu\text{gr}/\text{kg}$) e ketamina (20 mg/kg) ha prodotto un'induzione rapida e un mantenimento sufficientemente prolungato per terminare la procedura chirurgica negli Psittacidi presi in esame.

Bibliografia

1. Alves-Nicolau A., Auler J.O., Tabbachi-Fantoni D., Ambrosio A. O sevofluorano em psitacideos (*Amazonas aestiva*). Determinacao da dose minima (D.A.M) para producao de anestesia general. *Ciencia Rural*. 2002; 32(5):781-786.
2. André J.P. La visita degli psittacidi. *Summa*. 1997; 1: 47-55.
3. Bennett R.A., Gilson S.D. Surgical manegement of bifid sternum in two african gary parrots (*Psittacus Erithacus*). *J Am Vet Med Assoc*. 1999; 214(3): 372-374.
4. Clubb S., Zaias J., Cray C., Berube L., Crosta L. Endoscopic testicular biopsies for evaluation of fertility in psittacine birds. *Proceedings Ass Avian Vet*. 2002; 133-137.
5. Crosta L. La visita clinica del paziente aviare: principali punti di repere, contenimento manuale e farmacologico e dosaggio di alcuni farmaci di commune impiego. *Veterinaria*. 1997; 2: 115-127.
6. Crosta L., Gerlasch H., Burle H.M., Timossi L. Endoscopic testicular biopsy technique in psittaciformes. *J Avian Med and Surg*. 2002; 16(2): 106-110.
7. Curro T.G. Evaluation of the isoflurane-sparing effects of butorphanol and flunixin in psittaciformes. *Proc Assoc Avian Vet*. 1993; 17-19.
8. Curro T.G., Brunson D., Paul-Murphy J. Determination of the ED50 of isoflurane and evaluation of the isoflurane-sparing effect of butorphanol in cockatoos (*Cacatua spp.*). *Vet Surg*. 1994; 23:429-433.
9. Edling T.M., Degernes L.A., Flammer K., Horne W.A. Capnographic monitoring of anesthetized African grey parrots receiving intermittent positive pressure ventilation. *J Am Vet Med Assoc*. 2001; 219(12):1714-1718.
10. Forbes N.A. Gli uccelli. In: Seymour C., Gleed R. *Anestesia e analgesia nel cane, gatto e animali esotici*. UTET. 1999:309-321.
11. Iotti M. Tesi di laurea: "Determinazione del sesso negli psittacidi: tecniche diagnostiche ed assistenza anestesiológica". Università degli Studi di Parma, Facoltà di Medicina Veterinaria, Anno Accademico 1997-1998.
12. Jaensch S.M., Cullen L., Raidal S.R. Air sac functional anatomy of the sulphur-crested cockatoo (*Cacatua galerita*) during isoflurane anesthesia. *J Avian Med and Surg*. 2002; 16(1): 2-9.
13. Jaensch S.M., Cullen L., Raidal S.R. Comparative effects of halothane and isoflurane in Galahs (*Eolophus roseicapillus*). *J Avian Med and Surg* 1999; 13(1):15-22.
14. Jaensch S.M., Cullen L., Raidal S.R. Comparison of endotracheal, caudal thoracic air sac, and calvicular air sac administration of isoflurane in sulfur-crested cockatoos (*Cacatua galerita*). *J Avian Med and Surg* 2001; 15(3):170-177.
15. Kautwald-Junghanns M.E., Valerius K.P., Duncker H.R. CT-assisted versus silicone rubber cast morphometry of the lower respiratory tract in healthy amazons (genus *Amazona*) and grey parrots (genus *Psittacus*)
16. Langlois I., Harvey R.C., Jones M., Schumacher J. Cardiopulmonary and Anesthetic Effects of Isoflurane and Propofol in Hispaniolan Amazon Parrots (*Amazona ventralis*) *J Avian Med and Surg*. 2003; 17(1):4-10.
17. Ludders J.W., Matthews N. Birds. In: Lumb & Jones' *Veterinary anesthesia* 3rd

- edition. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins. 1996:645-669.
18. Mauthe von Degerfeld M. Esperienze sull'uso dell'associazione Domitor®/Ketamina nella pratica anestetica degli Psittacidi. *Animal Health*. 2003; 2:1-3.
 19. Oglesbee B.L., Hamlin R.L., Klingaman H., Cianciola J., Hartman S.P. Electrocardiographic reference values for Macaws (*Ara* species) and Cockatoos (*Cacatua* species). *J Avian Med and Surg*. 2001; 15(1):17-22.
 20. Paddelford R.R. Anestesia dei piccoli animali. Ed. Masson Veterinarie. Cremona. 2000; 64, 67-71.
 21. Pettifer G.R., Cornick-Seahorn J., Smith J.A., Hosgood G., Tully T.N. The comparative cardiopulmonary effects of spontaneous and controlled ventilation by using the Hallowell EMC anesthesia workstation in Hispaniolan Amazon parrots (*Amazona ventralis*). *J Avian Med and Surg*. 2002; 16(4):268-276.
 22. Quandt J.E., Greenacre C. Comparison of sevoflurane and isoflurane induction and recovery in psittacine birds. *Vet Surg*. 1997; 26:162.
 23. Quandt J.E., Greenacre C., Cheryl B. Sevoflurane anesthesia in psittacines. *J Zoo Wildl Med*. 1999; 30(2):308-309.
 24. Rembert M.S., Smith J.A., Hosgood G., Marks S.L., Tully T.N., Comparison of traditional thermal support devices with the forced-air warmer system in anesthetized Hispaniolan Amazon parrots (*Amazona ventralis*). *J Avian Med and Surg*. 2001; 15(3):187-193.
 25. Rübél A., Isenbügel E. Pappagalli e parrocchetti. In: Gabrisch K., Zwart P. *Medicina e chirurgia dei nuovi animali da compagnia Vol. 1*. UTET. 2001:227.
 26. Sandmeier P. Evaluation of medetomidine for short-term immobilization of domestic pigeons (*Columba livia*) and Amazon parrots (*Amazona* species). *J Avian Med and Surg*. 2000; 14(1):8-14.
 27. Scrollavezza P., Zanichelli S. Palestra L. Anestesia negli uccelli. *ODV*. 1995; 11: 13-21.
 28. Sinn L.C. Anesthesiology. In: Ritchie B.W., Harrison G.J., Harrison L.R. *Avian medicine: Principles and application*, Wingers: Florida. 1994:1066-1080.

ANESTESIA GENERALE DELLA PECORA IN CARDIOCHIRURGIA SPERIMENTALE

De Razza P., Leonardi F., Zanichelli S., Botti P.

RIASSUNTO

Sono state sottoposte ad anestesia generale 13 pecore per interventi sperimentali di chirurgia cardiovascolare. Gli animali sono stati suddivisi in due gruppi: il primo protocollo anestesiológico con l'utilizzo di una miscela di xilazina e acepromazina per la preanestesia, di tiopentale sodico per l'induzione e di alotano o isofluorano, vaporizzati in ossigeno e protossido d'azoto, per il mantenimento; nel secondo sono stati impiegati il diazepam per la sedazione, il propofol per l'induzione e l'isofluorano, vaporizzato in ossigeno e protossido d'azoto, per il mantenimento. Entrambi i protocolli si sono dimostrati idonei alle necessità chirurgiche sperimentali; i pazienti anestetizzati con diazepam e propofol hanno mostrato, tuttavia, una maggiore stabilità emodinamica rispetto a quelli dell'altro gruppo.

SUMMARY

Thirteen sheeps underwent general anesthesia for cardiac experimental surgery. These animals were divided in two groups: one received xylazine and acepromazine, tiopenthal and halothane or isoflurane; the others received only diazepam, propofol and isoflurane. In our experience the two protocols are substantially successfull for the aims of the study, even if animals which were treated with diazepam and propofol showed more haemodynamic stability when compared with the other groups.

RESUMÉ

On a mit en anesthésie générale 13 brebis pour des études expérimentaux de recherche en chirurgie cardio-vasculaire. Les animaux ont été subdivisés en deux groups. Le premier protocole anesthésiologique a prévu l'utilisation d'un mélange de xilaxine, et d'acepromazine pour la préanesthésie, de tiopentale pour l'induction et d'halotane ou d'isofluorane vaporisés dans l'oxygène et le protoxyde d'azote pour le maintien.

Les résultats obtenus ont démontré que les deux protocoles ont été appropriés pour le but proposé, bien que les patients anesthésiés avec diazepam et propofol ont démontré une plus grande stabilité hémodynamique de ceux-là de l'autre group.

INTRODUZIONE

La ricerca è stata condotta su pecore in anestesia generale con due diversi protocolli anestesiológicos: un primo gruppo (8 animali) è stato sottoposto a chirurgia cardiaca in circolazione extracorporea (CEC) per l'impianto e la valutazione in vivo di un sistema di assistenza ventricolare sinistro, nel secondo gruppo (5 animali) è stata eseguita una procedura terapeutica innovativa della insufficienza mitralica ischemica mediante impianto di cellule miocitiche autologhe.

Da anni la pecora è stata accettata come modello sperimentale per la cardiocirurgia: è di facile ed economica stabulazione, è docile e consente una corretta gestione pre- e post-operatoria, l'apparato cardiovascolare ovino è simile a quello umano.

Numerosi autori^{2, 3, 7, 10, 13, 23, 32} si sono occupati di protocolli anestesiológicos per la chirurgia cardiovascolare negli ovini a scopo sperimentale.

In questo lavoro saranno analizzati due protocolli per l'assistenza anestesiológica della pecora. Sono stati studiati i parametri vitali degli animali monitorati in corso di anestesia generale e le modificazioni emodinamiche osservate.

Lo studio è stato condotto presso la Sezione di Clinica Chirurgica Veterinaria e Medicina d'Urgenza del Dipartimento di Salute Animale dell'Università degli Studi di Parma con la collaborazione della Sezione di Cardiocirurgia del Dipartimento di Scienze Chirurgiche della Facoltà di Medicina e Chirurgia dell'Università degli Studi di Parma, della Cardiocirurgia del San Raffaele di Milano, della Cardiocirurgia degli Spedali Civili di Brescia e del Centro di Ricerca in Cardiocirurgia dell'Università di Maastricht.

MATERIALI E METODI

Animali

Sono state incluse nello studio 13 pecore di razza sarda, femmine, di circa 2 anni d'età, con un peso medio di $48,92 \pm 1,98$ kg. Gli animali sono stati divisi in due gruppi: gruppo A (n. 8 pecore) e gruppo B (n. 5 pecore).

Assistenza anestesiológica

Gli animali sono stati sottoposti a visita preanestesiológica il giorno prima dell'intervento chirurgico. Il digiuno preoperatorio è stato di 12 ore.

Nel gruppo A la premedicazione è stata effettuata con una miscela di acepromazina maleato (Prequillan[®]) alla dose di 0,07 mg/kg p.v. e xilazina (Rompum[®]) alla dose di 0,25 mg/kg p.v. somministrata per via intramuscolare. Un agocannula del diametro di 16 G è stato inserito nella vena cefalica dell'avambraccio destro e raccordato ad un rubinetto a tre vie per la somministrazione dei fluidi. L'anestesia è stata indotta con tiopentale sodico (Pentothal sodium[®]) al 2,5 % alla dose iniziale

di 10 mg/kg p.v., somministrato per via endovenosa ad effetto, fino alla scomparsa del riflesso palpebrale. Le pecore sono state intubate con tubo orotracheale cuffiato tipo Megill del diametro di 9 mm (2 pecore) o 10 mm (6 pecore) e con l'ausilio di un laringoscopio MacIntosh con lama da 5 per evidenziare la laringe, in decubito laterale destro. Nei nostri animali l'intubazione è avvenuta in decubito laterale con collo esteso e visualizzazione diretta del laringe con laringoscopio mentre un aiuto ha tenuto ferme laringe e trachea con manualità esterna. Dopo intubazione orotracheale l'animale è stato posto sul tavolo operatorio e collegato ad un circuito a rirespirazione utilizzando la macchina per anestesia Fabius (Dräger, USA).

L'anestesia è stata mantenuta con alotano (5 pecore) e isofluorano (3 pecore) vaporizzati in una miscela di ossigeno e protossido d'azoto in rapporto variabile tra 1:1 e 1:2 e con velocità di flusso di 6 L/min. Durante la circolazione extracorporea il mantenimento dell'anestesia è stato effettuato con infusione continua endovenosa di propofol (Rapinovel®) alla dose di 0,10 mg/kg/min mentre la somministrazione della miscela anestetica veniva sospesa. Prima dell'apertura del torace in tutti gli animali è stato indotto il blocco neuromuscolare con pancuronio (Pavulon®) alla dose di 0,10 mg/kg p.v. somministrato per via endovenosa. Si è ricorso a boli ripetuti di 2 µg/kg p.v. di fentanyl (Fentanest®) per via endovenosa per il controllo del dolore.

La lidocaina cloridrato al 2% senza adrenalina (Lidocaina cloridrato®) è stata utilizzata, come farmaco antiaritmico, inizialmente alla dose di 2 mg/kg p.v. in bolo endovenoso e successivamente ripetuta secondo necessità alla dose di 0,08 mg/kg p.v. L'amiodarone (Cordarone®), alla dose di 3 mg/kg p.v., è stato somministrato in bolo endovenoso nei casi di aritmie refrattarie alla lidocaina. L'esmololo (Brevibloc®), un beta-bloccante, è stato utilizzato alla dose di 0,1 mg/kg p.v. per via endovenosa in corso di tachiaritmia.

In caso di fibrillazione atriale o ventricolare la defibrillazione è stata effettuata con defibrillatore Marquette Hellige (Germania), ponendo due elettrodi interni a livello dei due ventricoli ed impiegando scariche in successione da 20, 30 J fino a massimo 50 J per ottenere la defibrillazione.

Farmaci inotropi, noradrenalina tartrato (Noradrenalina Monico®) alla dose di 0,02 mg/kg p.v. in bolo per via endovenosa od in infusione continua alla dose di 0,2 µg/kg/min oppure adrenalina (Adrenalina Monico®) alla dose di 0,01 mg/kg p.v. in bolo i.v. o in infusione continua alla dose di 0,1 µg/kg/min, sono stati utilizzati per aumentare la forza di contrattilità miocardica, per riempire cuore e grossi vasi e riportare la pressione ematica nel range di normalità alla fine della CEC e prima di iniziare le valutazioni del device impiantato.

L'eparina (Liquemin®) è stata utilizzata per il trattamento anticoagulante, alla dose iniziale di 300 UI/kg p.v., somministrata per via endovenosa all'animale e aggiunta alla soluzione di riempimento della macchina per la circolazione extracorporea prima di connettere il paziente.

Gli animali sono stati mantenuti in anestesia generale per il tempo necessario alla raccolta dei dati utili ai fini della sperimentazione; al termine sono stati soppressi con una somministrazione endovenosa di Tanax® alla dose di 0,3 ml/kg p.v.

Ai soggetti del gruppo B, incannulata la vena cefalica dell'avambraccio destro con agocannula da 18 G, sono state somministrate per via endovenosa, pre- e

post-operatoriamente, cefazolina (Cefazolina®) alla dose di 20 mg/kg p.v. e flunixin meglumine (Niglumine®) alla dose di 1 mg/kg p.v. poiché era una sperimentazione in cronico.

Come premedicazione è stato somministrato diazepam (Diazepam 0,5 %®) alla dose di 0,5 mg/kg p.v. per via endovenosa e l'induzione è stata effettuata con propofol (Rapinovel®) alla dose di 3 mg/kg p.v. per via endovenosa. L'intubazione è stata eseguita con le modalità descritte per il gruppo precedente, quindi l'animale è stato connesso ad un circuito a ri-respirazione utilizzando la macchina per anestesia Fabius (Dräger, USA). L'anestesia è stata mantenuta con isoflurano vaporizzato in una miscela di ossigeno e protossido d'azoto in rapporto variabile tra 1:1 e 1:2 e con velocità di flusso di 6 L/min.

Prima dell'apertura del torace in tutti gli animali è stato indotto il blocco neuromuscolare con atracurio besilato (Tracrium®) alla dose di 0,5 mg/kg p.v. per via endovenosa. Si è ricorso a boli ripetuti di fentanyl (Fentanest®) per via endovenosa per il controllo del dolore alla dose di 1-2 µg/kg p.v.

Come farmaco antiaritmico è stata utilizzata la lidocaina cloridrato al 2% senza adrenalina (Lidocaina cloridrato®), alla dose di 0,4 mg/kg p.v. in bolo endovenoso, prima delle stimolazioni meccaniche sul cuore e con somministrazioni ripetute secondo necessità.

Al termine della procedura chirurgica l'atracurio è stato antagonizzato, quando necessario, con neostigmina (Prostigmina®) alla dose di 10 µg/kg p.v. per via endovenosa ed è stato effettuato il blocco dei nervi intercostali con bupivacaina (Bupivacaina 0,5%®) alla dose di 1 mg/kg p.v.

Gli animali sono stati svezzati dal ventilatore meccanico e risvegliati, previa somministrazione di buprenorfina (Temgesic®) alla dose di 12 µg/kg p.v. per via intramuscolare.

Una sonda orogastrica è stata posizionata nel rumine e connessa ad un aspiratore, prima di risvegliare l'animale, al fine di eliminare eventuali gas presenti in eccesso.

Ventilazione

Nel Gruppo A la ventilazione è stata spontanea in 2 pecore fino all'apertura del torace, mentre nelle restanti 6 pecore di tale gruppo e nelle 5 pecore del Gruppo B, subito dopo l'intubazione, si è fatto ricorso a ventilazione controllata a pressione positiva intermittente (IPPV) con ventilatore meccanico Fabius (Dräger, USA). La IPPV ha previsto l'impostazione della frequenza respiratoria a 15 atti respiratori per minuto (apm), del volume tidale tra 500 e 700 ml (10-14 ml/kg) e della pressione positiva a fine espirazione (PEEP) da 3 a 12 cm H₂O.

Monitoraggio

Per il monitoraggio dell'animale è stato utilizzato il monitor Guardian BPM-700 (Biosys, Korea). Sono stati rilevati la frequenza del polso, la saturazione

di ossigeno arteriosa con pulsossimetro posizionato sulla lingua, la pressione ematica arteriosa con metodo oscillometrico per mezzo di un manicotto posto sull'avambraccio, la temperatura corporea attraverso una sonda esofagea e il tracciato ECG in seconda derivazione con tre elettrodi posizionati sugli arti toracici destro e sinistro e sull'arto pelvico sinistro. La spirometria è stata rilevata con monitor PM 8050 (Dräger, USA). Sono stati valutati, inoltre, il colore delle mucose esplorabili e il tempo di riempimento capillare.

Fluidoterapia

In tutti i soggetti inclusi nello studio una soluzione cristalloide di Ringer lattato è stata somministrata subito prima dell'induzione e per tutta la durata dell'anestesia generale, alla velocità di 10 ml/kg/h. Durante la procedura chirurgica è stata associata la somministrazione di una soluzione colloidale a base di poligelina (Emagel®) solo nei pazienti del Gruppo A. La quantità di fluidi infusi è stata modificata in base alle variazioni della pressione ematica.

RISULTATI

Gruppo A

Al momento della visita preanestetica sono stati rilevati i seguenti parametri: frequenza cardiaca $96,25 \pm 8,97$ bpm; frequenza respiratoria $36,37 \pm 11,24$ apm, temperatura corporea $39,06 \pm 0,38$ gradi centigradi, colore delle mucose apparenti e tempo di riempimento capillare (TRC) nella norma. All'auscultazione e all'esame elettrocardiografico (ECG) il cuore è risultato normale.

Il dosaggio dell'acepromazina e della xilazina è stato variato in base al temperamento manifestato dall'animale durante la visita preanestesiologica. La dose media è stata di $0,07 \pm 0,01$ mg/kg p.v. di acepromazina e di $0,25 \pm 0,06$ mg/kg p.v. di xilazina somministrate per via intramuscolare, quindi gli animali sono stati lasciati tranquilli per circa 40 minuti nei ricoveri. Trascorso questo periodo, necessario affinché la premedicazione avesse pieno effetto, tutti i soggetti hanno mostrato decubito sternale e da lieve a moderata atassia, se stimolati. Durante il trasporto in sala di preparazione, gli animali sono apparsi tranquilli, non hanno mostrato segni d'ansia o vocalizzazioni anche nelle successive manipolazioni per la tricotomia e il posizionamento dell'agocannula.

In questa fase sono stati registrati: frequenza cardiaca $71,25 \pm 11,46$ bpm, frequenza respiratoria $45,75 \pm 22,56$ apm, temperatura corporea $38,73 \pm 0,47$ gradi centigradi, colore delle mucose e TRC che sono apparsi nei range di normalità. Gli animali non hanno manifestato vomito o rigurgito in questo frangente.

L'induzione dell'anestesia è stata rapida e tranquilla e ha consentito un buon rilassamento del tono mandibolare. Tuttavia l'intubazione, effettuata subito dopo l'induzione, è stata piuttosto difficoltosa. Dopo l'induzione è comparsa

scialorrea di moderata entità.

Nelle prime fasi del mantenimento con anestetici inalatori la respirazione è stata spontanea in 2 pecore. In entrambi i soggetti la frequenza respiratoria si è mantenuta su valori elevati: $47 \pm 9,89$ apm. Le altre 6 pecore sono state connesse al respiratore meccanico e ad IPPV subito dopo l'intubazione. Nei primi 20 minuti di anestesia generale la saturimetria e la spirometria hanno dato valori nella norma in tutti gli 8 animali: la saturazione di ossigeno dell'emoglobina (SpO_2) è stata $95,40 \pm 3,81$ % e il tasso di anidride carbonica misurata a fine espirazione (EtCO_2) è stata $38,50 \pm 7,77$ mmHg.

Per mantenere la pressione arteriosa nel range di normalità si sono somministrate soluzioni colloidali, boli di fentanyl ripetuti secondo necessità in base alla comparsa di tachicardia, improvvisa ed ingiustificata; si sono mantenute basse le concentrazioni degli anestetici alogenati da 1,5 a 0,8 % di alotano per le pecore numero 1, 2, 3, 4, 5 e da 2 a 1 % di isofluorano per le pecore numero 6, 7, 8. In questa fase, si sono mantenuti ossigeno e protossido d'azoto in rapporto 1:2 nelle pecore 1, 2, 3 e 4, mentre il rapporto è stato di 1:1 nelle pecore 5, 6, 7 e 8.

Nella fase iniziale dell'anestesia generale la soluzione colloidale è stata associata alla soluzione cristalloide e somministrata alla dose di 5 ml/kg/h; durante l'intervento il flusso è stato modificato in base ai valori pressori rilevati, mentre è stato sospeso o rallentato durante la CEC.

Il fentanyl è stato somministrato in bolo a $2 \mu\text{g}/\text{kg}$ p.v. iniziali, per tutti i soggetti qualche istante prima della sternotomia o della toracotomia: nella pecora numero 1 non è stato somministrato fentanyl in aggiunta; nella pecora numero 2 sono stati necessari 4 boli successivi somministrati a distanza di 10 minuti l'uno dall'altro; la pecora numero 3 ha avuto bisogno di un bolo dopo 5 minuti e di due altri boli a distanza di 10 minuti l'uno dall'altro, un ulteriore bolo è stato somministrato durante il clampaggio dell'aorta ed un altro durante la fase di svezzamento dalla macchina per la CEC; per la pecora numero 4 un bolo aggiuntivo è stato somministrato dopo 10 minuti, quindi 2 boli successivi sono stati necessari durante la circolazione extracorporea in aggiunta al propofol; nella pecora numero 5 un bolo è stato necessario dopo 10 minuti, mentre 3 boli sono stati somministrati durante la CEC, il primo subito prima dell'inizio di quest'ultima, il secondo dopo 40 minuti ed il terzo nella fase di svezzamento; nella pecora numero 6 sono stati somministrati solo 2 boli aggiuntivi a distanza di 10 e 15 minuti l'uno dall'altro nella fase immediatamente successiva alla toracotomia; nella pecora numero 7 il fentanyl è stato necessario dopo l'inizio della chirurgia, poi dopo 10 minuti dalla prima somministrazione e poco prima della toracotomia, 5 minuti prima dell'inizio della CEC e dopo 10 minuti da quest'ultima; nella pecora numero 8 un bolo è stato somministrato all'inizio della chirurgia e un bolo successivo al momento della toracotomia. La scelta del momento utile per somministrare il bolo di analgesico è stata dettata dalla comparsa di improvvisa ed ingiustificata tachicardia.

Il blocco neuromuscolare con pancuronio bromuro è stato indotto con una dose media di $0,17 \pm 0,05$ mg/kg p.v.: subito prima della sternotomia o toracotomia è stata somministrata la dose stabilita di 0,10 mg/kg, tuttavia in due soggetti è stato

necessario somministrare un bolo aggiuntivo perché il grado di miorellassamento non era adeguato.

Nei pazienti in decubito dorsale dopo l'apertura del torace si sono manifestati fenomeni di ipotensione importante trattati con aumento della velocità di infusione della soluzione cristalloide fino a 30 ml/kg/h in associazione alla soluzione colloidale, con riduzione delle concentrazioni degli anestetici alogenati e aumento contemporaneo della somministrazione di fentanyl.

La diretta visione dei polmoni, in tutti gli animali, a seguito della toracotomia o sternotomia, ha evidenziato un certo grado di atelettasia polmonare che si è aggravata nel corso dell'intervento a seguito delle manipolazioni e dell'esposizione del parenchima attraverso la breccia operatoria. Per contrastare l'atelettasia è stata utilizzata una PEEP di 10-12 cm H₂O. Quando il valore di SpO₂ si è ridotto al 90% è stata utilizzata la ventilazione manuale fino al ritorno alla normalità. In alcuni soggetti non è stato possibile ottenere un'adeguata espansione polmonare e, pertanto, le pressioni all'interno dell'albero respiratorio e, di conseguenza, l'emodinamica di base sono risultate alterate.

I risultati del monitoraggio relativi a MAP, EtCO₂ e SpO₂ sono riportati nei grafici 1, 2 e 3 considerando quattro momenti: T0 = inizio della chirurgia, T1 = toracotomia o sternotomia, T2 = fase iniziale della CEC e T3 = svezzamento dalla CEC.

Durante la CEC il flusso ematico è divenuto continuo ed è stato, quindi, impossibile monitorare la saturazione d'ossigeno con il pulsossimetro. Tuttavia i valori emogasanalitici hanno rivelato un aumento della PaO₂ e della saturazione di ossigeno rispettivamente a 683,5 ± 44,55 mmHg e 99,17 ± 0,98 %. Durante questa procedura la somministrazione degli anestetici alogenati è stata sospesa, mentre l'anestesia generale è stata mantenuta con infusione endovenosa continua di propofol ad una dose media di 0,10 ± 0,02 mg/kg/min. La ventilazione meccanica e la PEEP hanno supportato l'animale anche in questa fase della chirurgia, sebbene fossero saltuariamente sospese, su richiesta dei chirurghi, per facilitare la visione del campo operatorio e soprattutto le manualità sui grossi vasi. Inoltre, la somministrazione di N₂O è stata sospesa mentre il flusso di 6 L/min di O₂ è stato diminuito, in alcuni casi, secondo le necessità della chirurgia. Al termine della CEC l'infusione di propofol è stata gradualmente sospesa, mentre è stato somministrato nuovamente l'anestetico alogenato con ossigeno, ma senza N₂O.

Durante la CEC è stato fondamentale assicurare un'adeguata perfusione attraverso il controllo dei flussi di pompa e dei volumi di soluzione, colloidale e cristalloide, per il "priming" (soluzione di riempimento della macchina per la CEC); l'ausilio di farmaci vasopressori è stato necessario nelle fasi finali della CEC e nello svezzamento dalla macchina per supportare la pressione ematica ed aumentare la contrattilità cardiaca e il riempimento ventricolare.

Le manualità chirurgiche su cuore e aorta hanno provocato aritmie e fibrillazione atriale e ventricolare. La somministrazione di boli ripetuti di lidocaina (nelle pecore 4, 6, 7 e 8) ha risolto, nella maggior parte dei casi, l'aritmia. Nella pecora numero 2 è stato utilizzato l'esmololo come antiaritmico, in un'unica

somministrazione in bolo. In due animali, numero 2 e 4, è stato utilizzato anche l'amiodarone in bolo. Nelle pecore 1, 3 e 5 non sono stati utilizzati antiaritmici.

L'uso del defibrillatore è stato necessario ed efficace nella maggior parte dei pazienti. In un soggetto, n. 4, al termine delle valutazioni sul *device*, si è presentata fibrillazione ventricolare che, nonostante la defibrillazione secondo la procedura abituale, ha portato a morte l'animale senza poter ripetere le valutazioni più volte. Nella pecora n. 2 la recisione accidentale di un vaso ha determinato un'emorragia importante che ha portato, nonostante la somministrazione di fluidi adeguati, ad uno scompenso emodinamico e ad aritmie, culminati in episodi di fibrillazione che hanno condotto all'arresto cardiaco.

La durata della CEC è stata di $70 \pm 8,16$ minuti in 7 pecore; nell'ottavo animale è stata di soli 5 minuti. La temperatura corporea degli animali è diminuita da $35,39 \pm 1,17$ gradi centigradi prima della CEC a $32,77 \pm 0,78$ gradi centigradi alla fine della CEC.

La durata della anestesia generale è stata di $219,37 \pm 25,41$ minuti (range: 3 h e 25 minuti - 4 h e 15 minuti). La temperatura corporea delle pecore è stata rilevata poco prima dell'eutanasia ed è stata di $32,31 \pm 0,55$ C°.

Gruppo B

Nel gruppo B sono stati rilevati prima della somministrazione di diazepam: frequenza cardiaca $116,67 \pm 28,73$ bpm, frequenza respiratoria $37 \pm 4,58$ apm, temperatura corporea $39,43 \pm 0,4$ gradi centigradi ed è stato effettuato un esame elettrocardiografico, risultato nella norma. Dopo 10 minuti dalla somministrazione di diazepam si sono registrati nuovamente i parametri: frequenza cardiaca $91,67 \pm 17,04$, frequenza respiratoria $27,3 \pm 9,02$ e temperatura corporea $39,0 \pm 0,7$.

L'induzione dell'anestesia con propofol è stata rapida e tranquilla ed il grado di miorilassamento è stato migliore rispetto al gruppo A, consentendo una rapida intubazione. Subito dopo la perdita del riflesso di deglutizione si è resa evidente una marcata scialorrea. Dopo l'intubazione tutti i soggetti sono stati connessi al ventilatore meccanico e ad IPPV.

La prima fase della chirurgia ha previsto la toracotomia sinistra al V spazio intercostale previo blocco neuromuscolare con una dose iniziale di atracurio di 0,5 mg/kg p.v., tuttavia in un soggetto (pecora n. 13) è stato necessario ripetere metà della dose iniziale perché il blocco non era sufficiente.

Nei grafici 4, 5 e 6 sono riportati gli andamenti di pressione arteriolare media (MAP), di anidride carbonica misurata a fine espirazione (EtCO₂) e di saturazione di ossigeno dell'emoglobina (SpO₂) registrati in tre momenti: T0 = inizio della chirurgia prima della toracotomia; T1 = toracotomia e fino alla chiusura della cavità toracica; T2 = fase finale dell'anestesia generale prima del risveglio dell'animale.

La pecora n. 11 è stata esclusa dai risultati del monitoraggio in quanto deceduta durante le fasi iniziali della chirurgia cardiaca.

La somministrazione di fentanyl in boli è iniziata preventivamente subito prima dell'inizio dell'intervento a tutti i pazienti.

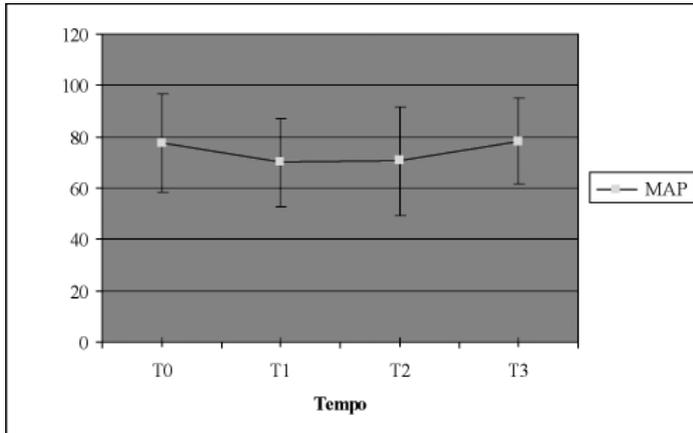


Grafico 1.
Gruppo A
Andamento della pressione arteriosa media (MAP) durante l'anestesia generale e la CEC.

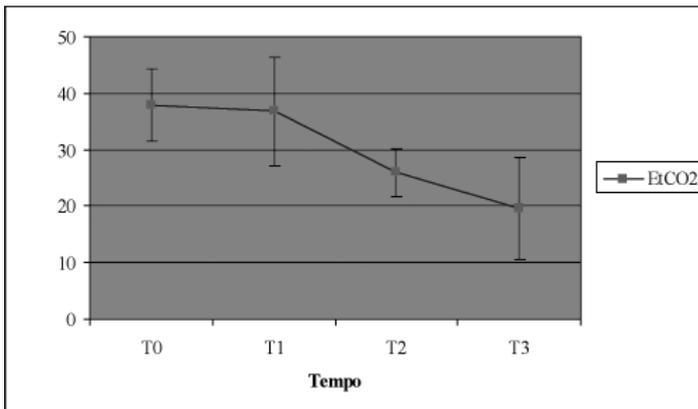


Grafico 2.
Gruppo A
Andamento della anidride carbonica misurata a fine espirazione (EtCO₂) durante l'anestesia generale e la CEC.

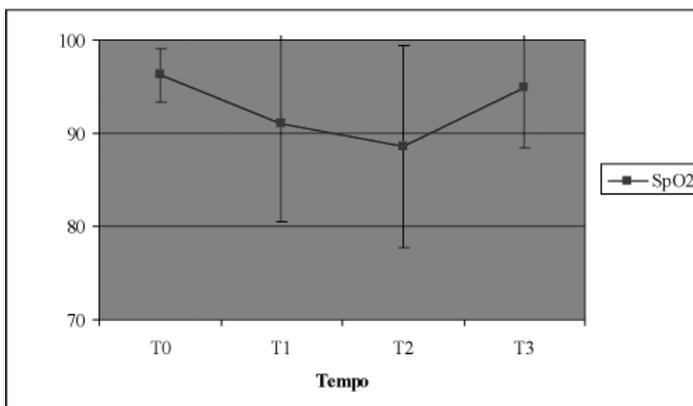


Grafico 3.
Gruppo A
Andamento della saturazione di ossigeno dell'emoglobina (SpO₂) durante l'anestesia generale e la CEC.

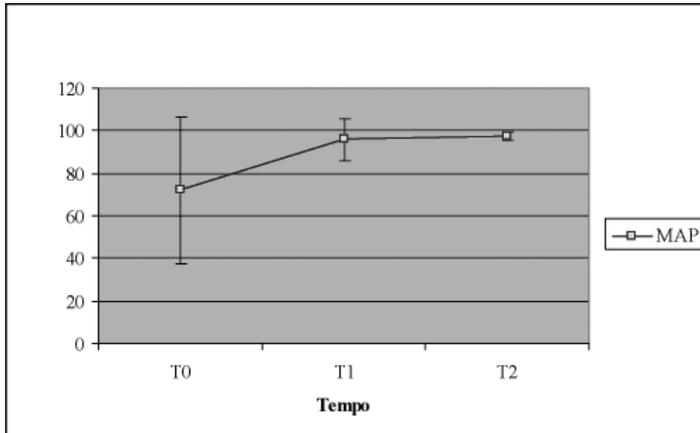


Grafico 4

Gruppo B

Andamento della pressione arteriosa media (MAP) durante l'anestesia generale.

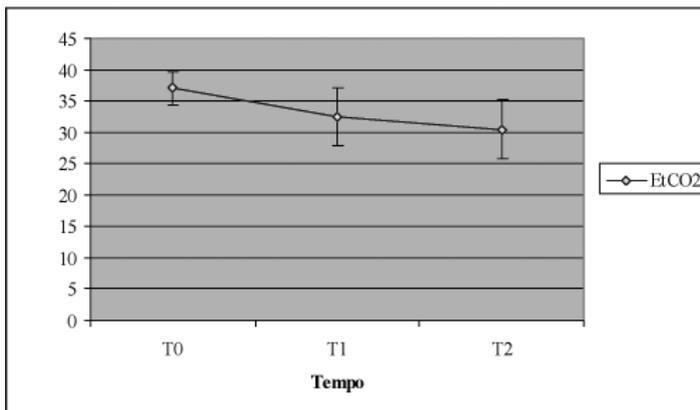


Grafico 5

Gruppo B

Andamento della anidride carbonica misurata a fine espirazione (EtCO₂) durante l'anestesia generale.

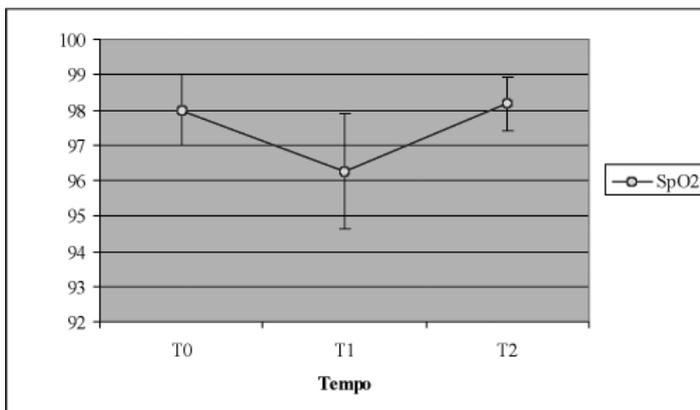


Grafico 6

Gruppo B

Andamento della saturazione di ossigeno dell'emoglobina (SpO₂) durante l'anestesia generale.

Nella pecora n. 9 sono stati utilizzati tre boli successivi a distanza di 10 minuti l'uno dall'altro dall'inizio della toracotomia; la pecora n. 10 ha richiesto la somministrazione di un bolo al momento della toracotomia e di un successivo bolo dopo 2 minuti; la pecora n. 11 ha necessitato di 3 boli successivi a distanza di 5 minuti l'uno dall'altro dal momento della toracotomia; nella pecora n. 12 sono stati utilizzati 2 boli prima della toracotomia e due boli successivi a quest'ultima a distanza di 10 minuti l'uno dall'altro; nella pecora n. 13 sono stati necessari 2 boli di analgesico, subito prima e poco dopo la toracotomia.

La lidocaina è stata somministrata in tutti gli animali preventivamente, subito prima delle manualità sul cuore. Nella pecora n. 9 la somministrazione è stata ripetuta per l'insorgenza di aritmia a seguito delle procedure chirurgiche; mentre nella pecora n. 11 l'insorgenza di grave aritmia e, successivamente, di fibrillazione ventricolare, non rispondenti ai tentativi di controllo farmacologico e al massaggio cardiaco, ha portato a morte il soggetto.

In tutti gli animali, esclusa la pecora n. 11 perché deceduta durante le fasi iniziali dell'intervento chirurgico, il blocco neuromuscolare è stato efficacemente antagonizzato in media dopo $43,5 \pm 10,28$ minuti con neostigmina alla dose di $10 \mu\text{g}/\text{kg}$.

La durata dell'anestesia generale è stata di $63 \pm 7,16$ minuti e alla fine dell'intervento chirurgico la temperatura corporea degli animali è stata di $37,05 \pm 0,37$ gradi centigradi.

DISCUSSIONE

Il digiuno preoperatorio nelle specie poligastriche è raccomandato da molti autori^{3, 4, 23, 28}. Mudrovici et al.²³ affermano che in questi animali il digiuno da solidi e liquidi deve essere di almeno 18 ore per ottenere una lieve disidratazione del contenuto ruminale senza conseguenze metaboliche. Altri raccomandano un digiuno da cibo di 12-18 ore, dall'acqua di 12 ore²⁸. Borrie et al.³ ritengono che un digiuno di 48 ore possa ridurre il vomito post-operatorio, ma comunque non sia sufficiente a svuotare il rumine.

Nel nostro caso abbiamo sottoposto gli animali ad un digiuno alimentare di 12 ore; non sono stati riscontrati episodi di rigurgito durante le fasi dell'anestesia, mentre nel gruppo B, prima del risveglio, è stato necessario svuotare il rumine con una sonda orogastrica.

Borrie³, nei primi anni '50, per perfezionare nuove tecniche di correzione di difetti del setto interatriale e di rigurgito della valvola mitralica, ha impiegato pecore sottoposte ad anestesia generale con una miscela di atropina solfato e pentobarbitale sodico, intubate con sonda orotracheale previa somministrazione di suxametonio bromuro e ventilate meccanicamente con una pompa di Palmer. Il mantenimento in anestesia generale era ottenuto con etere.

Collan⁷, nel 1970, ha pubblicato i risultati di uno studio in cronico in cui l'anestesia generale, la ventilazione meccanica e la circolazione extracorporea erano state praticate su 25 pecore per effettuare trapianti cardiaci. Gli animali erano

stati premedicati con meperidina, indotti e mantenuti in anestesia generale con pentobarbitale sodico oppure methoexitale sodico. Dopo intubazione orotracheale essi erano stati ventilati con respiratore meccanico con circuito a non-rirespirazione.

In tempi più recenti le procedure anestesilogiche e di circolazione extracorporea sono andate perfezionandosi.

In due anni di lavoro, tra il 1984 e il 1986, Holmberg et al.¹³ hanno effettuato chirurgia cardiovascolare in 189 ruminanti tra pecore e vacche, formulando un protocollo per l'assistenza anestesilogica e la CEC che ha previsto la premedicazione con atropina solfato, l'induzione dell'anestesia generale con tiamilal sodico e il mantenimento, previa intubazione orotracheale, con alotano e ossigeno. Gli animali erano, inoltre, sottoposti a ventilazione meccanica e blocco neuromuscolare indotto con succinilcolina.

Mudrovici et al.²³ hanno condotto studi per valutare in vivo delle protesi biologiche per la valvola tricuspide usando come modello sperimentale la pecora. Dieci animali erano stati indotti in anestesia generale con tiopentale sodico, intubati con sonda orotracheale dopo somministrazione di succinilcolina e mantenuti con alotano e ossigeno. Prima dell'inizio della chirurgia era stata somministrata meperidina. La sperimentazione aveva richiesto l'utilizzo della circolazione extracorporea.

Secondo Ali et al.² la pecora rappresenta l'animale d'elezione per la chirurgia sperimentale sulle valvole cardiache, per la conformazione anatomica molto simile a quella umana. In tre anni di studi, sono state impiegate 180 pecore sottoposte ad anestesia generale e CEC. Il protocollo anestesilogico prevedeva una premedicazione con atropina, l'induzione dell'anestesia con ketamina e propofol. Dopo la somministrazione di atracurio, gli animali venivano intubati e mantenuti in anestesia con alotano in una miscela di ossigeno e protossido d'azoto.

In un lavoro di Velvis et al.³², sette agnelli neonati sono stati utilizzati come modello sperimentale per dimostrare la marcata e transitoria depressione della funzionalità ventricolare sinistra e del postcarico cardiaco dopo chirurgia cardiaca in CEC e profonda ipotermia. Gli animali inclusi nello studio furono anestetizzati con fentanyl citrato e ketamina e mantenuti in anestesia con boli ripetuti ad intervalli regolari dei due farmaci e ventilati meccanicamente.

Fieguth et al.¹⁰, per migliorare il trattamento chirurgico della fibrillazione atriale, sottoposero 8 pecore ad anestesia e CEC. Gli animali erano stati sedati con diazepam, l'anestesia generale indotta con tiopentale, quindi fu somministrato pancuronio bromuro per facilitare l'intubazione orotracheale e il mantenimento è stato ottenuto con isofluorano in una miscela di ossigeno e protossido d'azoto. I soggetti furono ventilati meccanicamente e trattati con boli ripetuti di fentanyl. Alla fine della procedura sperimentale, agli animali fu somministrata una dose aggiuntiva di tiopentale e fentanyl prima di provocare l'arresto cardiaco con un'iniezione intraventricolare di cloruro di potassio.

Sulla base della bibliografia consultata^{4, 5, 11, 23, 25, 26, 28, 30, 31} abbiamo formulato dei protocolli anestesilogici che comprendessero farmaci da noi comunemente impiegati, che risultassero maneggevoli ed idonei agli scopi delle sperimentazioni.

Per effettuare la visita preanestesilogica è stato necessario contenere i soggetti che, agitati perché non avvezzi a tali manipolazioni, dimostrarono un lieve

aumento della frequenza cardiaca e respiratoria rispetto ai normali valori a riposo.

Il protocollo utilizzato per il gruppo A ha previsto la somministrazione di una miscela sedativa-tranquillante di xilazina e acepromazina.

La xilazina è un α_2 -agonista comunemente impiegato nella pecora per la sedazione, sebbene siano stati descritti fenomeni di depressione respiratoria ed ipossiemia^{6, 11, 25, 28}. Tuttavia, in uno studio relativo alla somministrazione endovenosa di xilazina a dosi sedative nella pecora, sono state rilevate diminuzione della frequenza cardiaca e della pressione arteriosa media non statisticamente significative rispetto alla somministrazione di un placebo⁶. Quanto da noi rilevato negli animali inclusi nello studio, a 40 minuti dalla premedicazione, ossia la presenza di lieve tachipnea in assenza di bradicardia marcata, è in accordo con quanto riferito da Celly et al.⁶.

L'acepromazina, farmaco neurolettico fenotiazinico, è stata associata alla xilazina per il suo effetto tranquillante e per la sua azione antiaritmica verso aritmie indotte da tiobarbiturici, alotano e adrenalina²⁷.

La scelta di questa associazione per la premedicazione si è rivelata utile perché ci ha consentito di lavorare con animali tranquilli e di adoperare basse dosi di anestetico per l'induzione.

Nel gruppo B abbiamo voluto osservare la risposta alla somministrazione di diazepam per via endovenosa in quanto i suoi effetti emodinamici e cardiovascolari risultano blandi e trova larga applicazione in cardiocirurgia umana, come componente ipnotica di una anestesia bilanciata¹⁶.

Per la sedazione della pecora, il diazepam può essere utilizzato a dosi comprese tra 0,25-0,5 mg/kg, somministrato per via endovenosa e la sua durata d'azione è di circa 30 minuti^{8, 16, 28}.

Il tiopentale è ampiamente utilizzato per l'induzione dell'anestesia nei piccoli ruminanti^{10, 11, 13, 23, 28, 29, 30} nonostante sia nota la transitoria depressione miocardica che provoca¹⁸. Huang et al.¹⁴ hanno dimostrato che il tiopentale nella pecora riduce, anche se in modo transitorio, la contrattilità miocardica.

Da un recente studio condotto su pecore, la somministrazione di tiopentale, messa a confronto con propofol, non ha evidenziato differenze significative tra i due farmaci anestetici riguardo i loro effetti emodinamici e cardiaci: entrambi riducono la gittata sistolica ventricolare, non influenzando, però, la gittata cardiaca nell'unità di tempo, la pressione arteriosa media e la pressione venosa centrale²².

Negli animali inclusi nel gruppo A l'induzione dell'anestesia con tiopentale è stata rapida e tranquilla, non si è verificata apnea transitoria ed è stato raggiunto un discreto miorilassamento mandibolare, tuttavia l'intubazione è stata piuttosto difficoltosa.

Il protocollo anestesilogico per il gruppo B ha previsto l'utilizzo di propofol per l'induzione. Questo agente ipnotico è correntemente poco utilizzato per i ruminanti a causa dei costi elevati rispetto ad altri agenti anestetici, anche se i suoi effetti emodinamici, sovrapponibili a quelli del tiopentale²², lo rendono idoneo e nella nostra esperienza è risultato indurre, alla dose utilizzata, un miorilassamento migliore del tiopentale, semplificando le manualità nell'intubazione orotracheale. Non si sono verificati fenomeni secondari di apnea.

L'intubazione orotracheale nella pecora può essere praticata secondo differenti

tecniche e in decubito laterale o sternale^{7, 11, 26, 30}. Alcuni autori^{7, 11} suggeriscono l'intubazione alla cieca, introducendo con una mano il tubo orotracheale in bocca fino al laringe, tenuto fermo dall'esterno con pollice e indice dell'altra mano. Altri^{11, 28} utilizzano un laringoscopio per visualizzare il laringe, abbassare il dorso della lingua e l'epiglottide per permettere l'intubazione orotracheale. Un metodo alternativo prevede l'inserimento in trachea, previa illuminazione con il laringoscopio, di una guida in materiale plastico o metallico che indirizza, poi, il posizionamento del tubo orotracheale^{11, 15, 31}. Nei nostri animali l'intubazione è avvenuta in decubito laterale con collo esteso e visualizzazione diretta del laringe con laringoscopio, mentre un aiuto ha tenuto fermi laringe e trachea con manualità esterna. Nella nostra esperienza l'intubazione è risultata difficoltosa nel gruppo A, mentre più semplice nel gruppo B in cui gli animali hanno raggiunto un maggior grado di miorilassamento con l'induzione.

L'alotano e l'isofluorano sono anestetici aloogenati utilizzati per anestesi generali di lunga durata nei piccoli ruminanti^{7, 10, 11, 13, 23, 28, 32}. Questi anestetici inalatori sono di comune impiego anche nell'anestesia per la cardiocirurgia dell'uomo, in pazienti con buona performance cardiaca. I loro vantaggi sono dati dalla possibilità di raggiungere, con un solo farmaco, gli obiettivi dell'anestesia: l'incoscienza, il rilasciamento muscolare e l'abolizione delle risposte riflesse agli stimoli inducendo una riduzione dose dipendente del lavoro ventricolare e del consumo miocardico di ossigeno. Effetti indesiderati sono l'eccessiva depressione cardiovascolare e la mancanza di analgesia¹⁶. Nel corso della nostra sperimentazione sono stati impiegati sia alotano che isofluorano per il mantenimento dell'anestesia generale. Entrambi hanno garantito un piano anestesilogico adeguato e costante in tutti gli animali. Per ridurre la concentrazione dell'anestetico inalatorio richiesto per una sufficiente profondità dell'anestesia, limitando, quindi, l'incidenza degli effetti collaterali, sono stati utilizzati altri anestetici: il protossido d'azoto ed il fentanyl.

Il protossido d'azoto è stato utilizzato per integrare l'azione degli aloogenati in quanto i suoi effetti cardiovascolari sono limitati nel paziente sano. È comunemente impiegato nell'anestesia per chirurgia cardiaca umana, tuttavia massima attenzione è rivolta alla sua capacità di espandere gli spazi cavitari ed anche provocare emboli gassosi¹⁶. Il rischio maggiore riguarda i pazienti che sono sottoposti a circolazione extracorporea a causa del rischio costante di embolia gassosa. Per ovviare a questo problema, negli animali del gruppo A, in corso di CEC, la somministrazione di N₂O è stata definitivamente sospesa.

Per quel che riguarda il gruppo A, durante la CEC il mantenimento dell'anestesia generale è stato ottenuto con infusione endovenosa continua di propofol, a cui è stato associato il fentanyl secondo necessità. Il propofol è risultato efficace alle dosi impiegate, sebbene inferiori a quelle riportate in letteratura¹¹.

Ai fini della nostra sperimentazione per il gruppo A è stato fondamentale stabilizzare gli animali dal punto di vista emodinamico: nelle prime 2 pecore sottoposte a sternotomia, sono state registrate pressioni arteriose medie (MAP) inferiori al range di normalità da ricondurre al decubito dorsale. In tale posizione si crea un gradiente di pressione sfavorevole tra vena cava e cuore destro, nonché tra parti dorsali dei polmoni ed atrio sinistro. La MAP si è mantenuta costante fino all'apertura del torace,

per diminuire successivamente per il cambiamento di posizione del cuore o per la riduzione del ritorno venoso. Nelle 6 pecore sottoposte a toracotomia e posizionate in decubito laterale, il ritorno venoso è stato migliore e, in accordo con quanto riportato da Collan⁷, anche la pressione ematica è risultata più stabile.

Per la sperimentazione eseguita sui pazienti del gruppo B la chirurgia ha richiesto un accesso toratomico al V spazio intercostale sinistro con l'animale posto in decubito laterale destro ed essendo l'approccio chirurgico al cuore molto meno invasivo rispetto alla tecnica necessaria alla sperimentazione eseguita nel gruppo A, i tempi della chirurgia cardiaca sono stati minori e più stabile si è mantenuta la MAP.

Per il gruppo A è stato indotto il blocco neuromuscolare con pancuronio: il suo utilizzo è stato sperimentato in diverse specie animali^{11, 12, 19, 20} e nei soggetti inclusi nel nostro studio è stata sufficiente una singola somministrazione per indurre un blocco adeguato per tutta la durata dell'intervento. E' ipotizzabile che una dose di bloccante neuromuscolare abbia dato un effetto prolungato per il potenziamento indotto dagli anestetici alogenati e per le condizioni di ipotermia dell'animale¹¹.

Per il gruppo B è stato scelto come miorilassante l'atracurio, anch'esso molto impiegato sia nell'uomo che in diverse specie animali. La sua più breve durata d'azione rispetto al pancuronio, in considerazione della minore durata della procedura chirurgica prevista per i pazienti inclusi in questo gruppo, ne ha consigliato l'impiego. Si è reso necessario, inoltre, antagonizzare l'atracurio con un farmaco anticolinesterasico: la neostigmina. Quest'ultima è stata utilizzata con successo per antagonizzare il blocco neuromuscolare indotto dall'atracurio nel cane e nel suino²⁸ e quello provocato da pancuronio, d-tubocurarina e vecuronio nella pecora^{5, 28}. Il ricorso alla neostigmina è stato deciso dopo ripetuti tentativi falliti di svezzare gli animali dal ventilatore meccanico. Sulla base della durata d'azione dell'atracurio nel cane (approssimativamente 17-29 min.) i tempi del blocco neuromuscolare nella pecora si sono prolungati notevolmente, superando i 43 minuti, probabilmente per la maggiore sensibilità della specie ovina verso questi farmaci.

La concentrazione degli anestetici alogenati è stata mantenuta bassa per ridurre al minimo gli effetti ipotensivi¹¹, ma è stato necessario l'utilizzo di fentanyl. Il fentanyl è stato descritto come utile narcotico per tecniche di neuroleptoanalgesia nella pecora²¹ ed è impiegato nell'uomo, in corso di anestesia per chirurgia cardiaca, come anestetico principale a dosi elevate per determinare profonda analgesia ed incoscienza¹⁶.

Negli animali di entrambi i gruppi si sono verificate alcune difficoltà di ventilazione meccanica. Si è potuto constatare un apprezzabile miglioramento della SpO₂ e dei fenomeni atelettasici a carico dei polmoni nei soggetti in cui la ventilazione con IPPV è stata instaurata dall'inizio dell'anestesia inalatoria. Un ulteriore vantaggio si è avuto con l'utilizzo di una PEEP di 3 cm H₂O, incrementata fino a 12 cm H₂O dopo l'apertura del torace, dall'inizio della IPPV. I nostri dati concordano con i riscontri bibliografici^{9, 24, 28}. Nonostante questi miglioramenti, un certo grado di atelettasia polmonare è stata una costante, più marcata nei soggetti del gruppo A. Non siamo riusciti ad eliminare completamente l'atelettasia con ripercussioni sulle pressioni nell'albero respiratorio e sulle condizioni emodinamiche di base, soprattutto a carico del cuore destro. Questi fenomeni sono stati particolarmente evidenti in quei pazienti

in cui le manipolazioni chirurgiche sono state prolungate. Negli animali inclusi nel gruppo B la SpO_2 è diminuita in maniera apprezzabile dopo la toracotomia, tuttavia la ventilazione manuale poco prima della chiusura della breccia toracotomica ha facilitato l'espansione polmonare, con un ritorno graduale alla normalità dei valori di SpO_2 .

I soggetti del gruppo A sono stati sottoposti a "scoagulazione" eparinica generale del sangue che costituisce il passaggio preoperatorio più importante per il bypass cardiopolmonare: la mancata eparinizzazione comporta la morte del paziente all'inizio della CEC¹⁶. La dose utilizzata negli animali inclusi nello studio è stata sufficiente allo scopo e non sono stati registrati fenomeni secondari successivi alla somministrazione. La CEC è stata d'importanza rilevante ai fini della nostra sperimentazione per il gruppo A: l'esclusione dal circolo di cuore e polmoni ha facilitato le manipolazioni chirurgiche per l'applicazione del *device* cardiaco, mentre la macchina per la CEC ha mantenuto una buona ossigenazione e un'adeguata omeostasi dell'organismo.

Per le valutazioni del LVAD nei soggetti inclusi nel gruppo A, la sperimentazione ha richiesto condizioni emodinamiche il più possibile standardizzate. I dati raccolti da pazienti non rispondenti a tali requisiti sono stati scartati a priori. L'ipotensione è stata trattata stimolando la funzione cardiovascolare con la somministrazione di catecolamine¹¹. La preferenza per la noradrenalina è legata agli effetti più completi, a parità di dosi¹, sulla pressione arteriosa sistolica, diastolica e media, rispetto all'adrenalina che è stata utilizzata solo per aumentare la contrattilità miocardica. La fluidoterapia è stata somministrata in base alla necessità di riempire la riserva della macchina per la CEC o il cuore stesso.

Le manualità chirurgiche sul cuore hanno indotto aritmie e fibrillazione atriale e ventricolare in tutti i soggetti. L'uso dei diversi antiaritmici è stato dettato dalle loro caratteristiche farmacologiche in risposta ai problemi che di volta in volta si sono manifestati. La lidocaina, appartenendo alla I classe, è stata utilizzata per controllare le tachiaritmie e spesso per prevenire le aritmie maggiori causate dalle manipolazioni del cuore; l'esmololo, un beta-bloccante, rientra nella II classe con azione antiadrenergica cardiaca ed è stato utilizzato in corso di tachicardia sopraventricolare; l'amiodarone, III classe, esercita attività antiaritmica dovuta ad un prolungamento della durata del potenziale d'azione e, nel nostro studio, è stato utilizzato solo nei casi in cui le aritmie sono risultate refrattarie alla lidocaina¹.

L'uso del defibrillatore è stato necessario in tutti gli animali del gruppo A, nella fase di CEC, per fibrillazione ventricolare.

Negli animali si è potuto osservare una riduzione progressiva e marcata della temperatura corporea conseguente, probabilmente, ai tempi prolungati della chirurgia, alla dispersione di calore attraverso l'ampia breccia operatoria, alla circolazione extracorporea e all'utilizzo di fluidi non riscaldati. Questo ha comportato una riduzione del metabolismo basale, testimoniata dal calo dell' $EtCO_2$. L'ipotermia è, comunque, una condizione auspicabile in corso di CEC poiché, oltre a ridurre il metabolismo, aumenta la viscosità ematica, in gran parte bilanciata dall'emodiluizione consecutiva all'utilizzo di soluzioni cristalloidi per il riempimento del circuito extracorporeo ed ancora spostata a sinistra la curva di dissociazione dell'ossiemoglobina e aumenta la

solubilità dei gas¹⁸. In cardiocirurgia, inoltre, l'ipotermia è utilizzata per proteggere le cellule miocardiche e soprattutto quelle cerebrali da eventuali danni da ipossia^{11, 12, 17, 31}.

CONCLUSIONI

La necessità di sottoporre ad anestesia generale delle pecore per interventi di cardiocirurgia sperimentale ci ha offerto l'opportunità di analizzare differenti protocolli anestesiológicos utilizzabili nella specie ovina e di confrontarci con le problematiche inerenti questo tipo di chirurgia.

Dai risultati ottenuti riteniamo che entrambi i protocolli abbiano raggiunto gli obiettivi fondamentali del nostro lavoro: il mantenimento di un piano anestesiológico e di un'analgesia costanti durante le fasi prolungate della chirurgia, il mantenimento di una buona volemia ed il supporto farmacológico necessario a fronteggiare le alterazioni emodinamiche e cardiovascolari indotte dalla chirurgia.

Il gruppo B, tuttavia, ha raggiunto un maggior grado di miorilassamento dopo l'induzione, e mantenuto una migliore stabilità emodinamica per tutta la durata dell'anestesia.

Tutti gli esperimenti sono stati eseguiti nel pieno rispetto delle normative vigenti in materia di sperimentazione animale (Decreto Legislativo 116/92). Lo studio è stato comunicato al Ministero della Salute in data 24 giugno 2003. Prima di avviare alla distruzione le spoglie di ciascuna pecora sono stati effettuati dal Servizio Veterinario della AUSL di Parma i prelievi di midollo. Lo smaltimento delle carcasse è stato effettuato nel rispetto del regolamento CEE 1744/02.

BIBLIOGRAFIA

1. Adams HR. Farmaci adrenomimetici ed antiadrenergici. In: Booth NH, Mc Donald LE. Farmacologia e terapeutica veterinaria. 1^a ed. Roma: E.M.S.I. 1991; 103-133.
2. Ali ML, Kumar SP, Biornstad K, Duran CMG. The sheep as an animal model for heart valve research. Cardiovascular Surgery 1996; 4: 543-549.
3. Borrie J, Mitchell RM. The sheep as an experimental animal in surgical science. Brit J Surg 1960; 47: 435-445.
4. Casamitjana P. Particolarità dell'anestesia nei piccoli ruminanti. Summa 2001; 9: 17.
5. Cass N, Brown WA, Mg KC, Lampard DG. Reversal of nondepolarizing block by neostigmine. Anaesth Intensive Care 1980; 8:16.
6. Celly CS, Mcdonell WN, Young SS, Black WD. The comparative hypoxaemic effect of four α_2 adrenoceptor agonists (xylazine, romifidine, detomidine and medetomidine) in sheep. J Vet Pharmacol Therap 1997; 20: 464-471.
7. Collan R. Anesthetic and paraoperative management of sheep for total heart

- replacement. *Anesth Analg* 1970; 49: 336-343.
8. Conklin KA, Graham CW, Murad S, Randall FM, Katz RL, Cabalum T, Lieb SM, Brinkman CR 3rd. Midazolam and diazepam: maternal and fetal effects in the pregnant ewe. *Obstet Gynecol* 1980; 56: 471-474.
 9. Fernandez-Mondejar E, Chavero MJ, Machado J. Prophylactic positive end-expiratory pressure: are good intentions enough? *Critical Care* 2003; 7: 191-196.
 10. Fieguth HG, Wahlers TH, Borst HG. Inhibition of atrial fibrillation by pulmonary vein isolation and auricular resection-experimental study in a sheep model. *European Journal of Cardio-thoracic Surgery* 1997; 11: 714-721.
 11. Hall LW, Clarke KW, Trim CM. *Veterinary Anaesthesia*. 10th Edition. London: W. B. Saunders 2001; 341-366.
 12. Hildebrand SV, Howitt GA. Neuromuscular and cardiovascular effects of pancuronium bromide in calves anesthetized with halothane. *Am J Vet Res* 1984; 45: 1549-1552.
 13. Holmberg DL, Olsen DB. Anesthesia and Cardiopulmonary Bypass Technique in Calves and Sheep. *Vet Surg* 1987; 16: 463-465.
 14. Huang YF, Upton RN, Gray EC, Grant C, Zheng D, Ludbrook GL. The effects of short intravenous infusion of thiopentone on myocardial function, blood flow and oxygen consumption in sheep. *Anaesth Intensive Care* 1997; 25: 627-633.
 15. Hubbell JAE, Hull BL, Muir III WW. Perianesthetic considerations in cattle. *Compend Contin Educ Pract Vet* 1986; 8: F92-F102.
 16. Hug CC. Anestesia per la cardiocirurgia nell'adulto. In: Miller RD. *Trattato di Anestesia*. Antonio Delfino Ed. 1993; 3: 1743-1796.
 17. Kawai J, Peters J, Donovan F, Hershgold J, Rowley K, Kolff WJ. Implantation of a total artificial heart in calves under hypothermia with 10 day survival. *J Thorac cardiovasc Surg* 1972; 64: 54-60.
 18. Kirklin JW et al. *Cardiac surgery*. Churchill Livingstone 1986.
 19. Klein L, Sylvina T, Beck E. Neuromuscular blockade with d-tubocurarine, pancuronium and vecuronium in halothane anesthetized sheep. *Proc 2nd Int Cong Vet Anesth* 1985: 174.
 20. Klement P, Del Nido PJ, Mickleborough L, MacKay C, Klement G, Wilson GJ. Technique and postoperative management for successful cardiopulmonary bypass and open-heart surgery in dogs. *JAVMA* 1987; 190: 869-874.
 21. Kyles AE, Waterman AE, Livingston A, Vetmed B. Antinociceptive effects of combining low doses of neuroleptic drugs and fentanyl in sheep. *Am J Vet Res* 1993; 54: 1483-1488.
 22. Mather LE, Duke CC, Ladd LA, Copeland SE, Gallagher G, Chang DH. Direct cardiac effects of coronary site-directed thiopental and its enantiomers: a comparison to propofol in conscious sheep. *Anesthesiology* 2004; 101: 354-364.
 23. Mudrovici DE, Alberti CD, Eyherabide R, Lazia GS. Anestesia general en ovinos sometidos a circulación extracorporeal. *Vet Arg* 1989; 6: 608-610.
 24. Neumann P, Rothen HU, Berglund JE, Valtysson J, Magnusson A, Hedenstierna G. Positive end-expiratory pressure prevents atelectasis during general anaesthesia even in the presence of high inspired oxygen concentration. *Acta Anaesthesiol Scand* 1999; 43(3): 295-301.

25. Nolan AM, Waterman AE, Livingston A. The analgesic activity of alpha-2 adrenoceptor agonists in sheep: a comparison with opioids. *J Ass Vet Anaest* 1986; 14: 14-15.
26. Raptopoulos D, Koutinas A, Moustardis N, Papasteriadis A. The effect of xylazine or xylazine plus atropine on blood gases in sheep. *Proceeding of the 2nd International Congress of Veterinary Anaesthesia*. 1985; 201-202.
27. Rezakhani A, Edjtehadi M, Szabuniewicz M. Prevention of thiopental and thiopental/halothane cardiac sensitization to epinephrine in the sheep. *Can J Comp Med* 1977; 41: 389-95.
28. Riebold TW. Ruminants. In: Thurmon JC, Tranquilli WJ, Benson GJ. *Lumb and Jones' Veterinary Anesthesia*, 3rd ed. Williams & Wilkins 1996; 610-626.
29. Taylor PM. Effects of hypertonic saline infusion on the adrenocortical response to thiopental-halothane anesthesia in sheep after premedication with acepromazine. *Veterinary Surgery* 1999; 28: 77-82.
30. Taylor PM. *Anaesthesia in sheep and goats*. Practice 1991; 13: 31-36.
31. Thurmon JC, Benson GJ. Anesthesia in ruminants and swine. In: Howard JC, ed. *Current veterinary therapy, food animal practice*, 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders, 1993; 58-76.
32. Velvis H, Hines MH, Klopfenstein HS, Berry DD, Vinten-Johansen J. Depression of cardiac function after deep hypothermic circulatory arrest in deeply anesthetized neonatal lambs. *J Thor Card Surg* 1996, 111: 359-366.

CAPTIVE BRED LEMUR BEHAVIOUR AND ENDOCRINOLOGY

Ursich Elisa¹, Pier Giovanni Bracchi², Bianco Federico³

Introduction

Lemurs are classified as primates (prosimii) and they only exist on the island of Madagascar (two species can also be found on the nearby islands of Comore) and their existence is threatened even there, in fact many species have already completely disappeared. (Tattersall, 1993).

Madagascar is situated in the Indian Ocean, between the islands of Mauritius and the Reunion in the East, the Comore and the Seyshelles in the north and the African Continent in the west, from which it is separated by the Mozambique Channel. The reason why lemurs can be found only in Madagascar is that this island was separated from Africa 180 million years ago, carrying a sample of the African flora and fauna and its subsequent isolation permitted the existence of unique animal and vegetal species that became extinct in the rest of the world. Madagascar in fact is third classified in the world list of countries with higher primate diversity and its 32 species and 50 taxonomical categories are completely endemic. (Tattersall, 1993).

Lemurs have a very high morphological variability: the smallest weighs 30 grams and measures 12 cm, the biggest can weigh more than seven kilos. They spend most of the time on trees, they can be diurnal or nocturnal and they usually feed on leaves, fruit and flowers (rarely on small insects). Most lemurs have a long furry tail they use to balance body weight and to communicate and which is not prehensile like higher primates. (Durrell, 1992).

Red Ruffed Lemurs (*Varecia Variegata Rubra*) weigh between three and four kilos (females more than males), their tail measures 60 cm and their body 53 cm. (Stevens, 1993). Their coat is red with a white patch behind the neck, and limbs, tail, belly and face are black. (www.marwell.org.uk). To compensate the lack of manual manipulation they use their teeth for grooming: the six incisors of the lower jaw lean slightly forward and are separated from each other, forming a kind of comb. Also the second hind foot toenail is specialised for grooming in fact it is flat. (www.zoo.org/educate/facts_sheets/r_lemur.htm).

¹ Veterinarian, internship in the Equine Clinic "AznaCollar", Sevilla, Spain, elisaurich@hotmail.com

² Department of Animal Production, Vet. Biotechnology and Food Security and Quality Science, Veterinary Science Faculty, Parma University

³ Veterinarian, Doctorate in Domestic Animal Endocrinology.

Biology

Reproductive season: end of dry season (from May to July) in order to give birth at the beginning of the wet season when there is more food (September-October). (Doyle et al., 1979).

Gestation lasts 90-120 days, females reach sexual maturity at the age of two but the first pregnancy occurs when they are three years old. Oestrus cycle lasts 30 days and oestrus lasts 3-6 days. Lemurs are the only case among primates that can have more than one born in the same litter. Red Ruffed Lemurs have three pairs of mammals so their litter size can reach the number of six, but the average is three. Twins are quite common.

Age at independence: 135 days. (www.sfzoo.org/cgi_bin/animal.py).

Longevity: 15-20 years in the wild, 19 years in captivity.

Habitat and distribution: Red Ruffed Lemurs can be found only in the tropical forests of Masoala Peninsula (Northeast Madagascar).



Fig.1: two lemurs playing in the outside part of the enclosure



Fig.2: *sunbathe, groom and and passive rest on branches*

Behaviour: among all lemurs, Red Ruffed Lemurs are the ones that spend more time on trees. They are crepuscular, being more active at early morning and at late afternoon. A great degree of sociality has been observed among lemurs: Red Ruffed Lemurs live in groups of 2-5 individuals but they can reach the number of 16 depending on the season (in the dry season there is shortage of food, so groups are smaller). Grooming plays a role in strengthening the relationships between individuals. Males are often monogamous, females are dominant, being this the only case of female dominance among primates. (www.duke.edu/web/primate/bascbiol.html).

Communication: among the prosimii the sense of smell, of hearing and of seeing have more or less the same importance. But the presence of many skin glands in the Red Ruffed Lemurs (which are used to mark the territory) indicates the great importance of the sense of smell in the communication among lemurs.

Also vocalisation is an important strategy in the communication among lemurs: they have a very complex alarm system to warn each other if threatened by a predator. At the Duke Primate Centre there have been identified 12 different kinds of calls (they vary if the predator is on the ground or in the air) that are also used to co-ordinate group activities. (Doyle et al. 1997).

Population status: there is very little information about the geographical distribution and even less about the exact number of the population of Red Ruffed Lemurs actually living (since this species is not among the most studied ones) but the most recent estimations talk about 1000-10000 individuals. (www.marwell.org).

Conservation

Since man arrived on the Island of Madagascar (less than 2000 years ago) 8 genera and 15 species of lemurs have already become extinct and the actual

predictions claim that many other species could disappear in the next decades if some serious solutions should not be applied.

Of the 50 taxonomical categories of lemurs actually living in Madagascar 10 are seriously endangered, 7 are endangered, 19 are threatened and 14 are slightly threatened.

Lemurs are facing a very serious threaten: the 2000 red list of the IUCN classifies them as seriously endangered and among them *Varecia Variegata Rubra* is one of the most threatened in fact it is classified in the Appendix I of CITES list (Convention on the International trade in Endangered Species) and in class A of the 1969 African Convention. (www.shoarns.com/lemursnotes.html).

Main threats

There are many factors that threaten lemurs'existence, but the main ones are three: habitat destruction, hunting for food or for other reasons and live capture. Usually, the most serious threaten is forest destruction, and the same can be said for all primates in general. (Tattersall, 1993).

In fact it has been estimated that that 80% of Madagascar forests have been exploited by man for the production of mines, for the animals, to cultivate the land, and for the production of wood, and that proceeding with these rhythms could cause the destruction of all Madagascar forests within ten or twenty years.

Aim of the project

The aim of my project was to evaluate the behavioural quality of a group of Red Ruffed Lemurs and establish whether the enclosure was appropriate or if more enrichment behaviour was needed. (Kerridge, 1996).

To evaluate if the subjects were living in a condition of well being or of sufferance (stress, stereotyped movements) (Mason, 1991) I carried out both a behavioural observation (considering the differences with the in-situ behaviour recorded in literature) and an endocrinological study by measuring the level of cortisol faeces. (Cavigelli, 1999). The aim of this kind of research is to improve the quality of life of captive bred animals by increasing enrichment behaviour devices and by making the animals live in conditions as much similar as possible to their natural environmental conditions. (Ladewig, 2000).

Materials and methods

The collection of all the data available on the subjects I studied was the first thing I did, then followed one day of pilot study that was necessary to draw the enclosure and decide how to split it up in zones to consider. The aim of the pilot study was also a general observation to pick up the behaviours to consider and the sampling method to use and to evaluate the method and timing of the collection of faeces samples. (Whitten et al., 1998).

The specimens studied was a family of Red Ruffed Lemurs composed of:

dominant male, Bruno, born the 10.04.89

dominant female, Tana, born the 10.04.89

the dominant male and female gave birth to:

two males and one female the 23.04.00

one male the 29.04.02

After studying and dividing the enclosure into five microhabitats, I selected the most important behaviours that were displayed and I decided which sampling method to use: (Martin et al., 1986).

- > ad libitum sampling
- > one-zero
- > 8.30a.m.-18.30p.m.
- > 4 minutes intervals
- > total observation time: 80 h.

Faeces sampling: group faeces samples were collected daily during the 16 days of observation (it was not possible to identify the provenience of each sample for management reasons), immediately frozen at -20°C and eventually analysed with immuno-enzimatic analysis (EIA kit) to measure the level of cortisol metabolites (11-18 desossicortcosterolo). (Sapolsky, 1982).

Discussion

The data collected was transformed into graphs to find out a pattern of the different behaviours throughout the day. An important role in the behaviour is played by the enclosure and I carefully studied the way the lemurs used it. (Fig.1-2).

It is necessary to deal separately with the dominant male and the rest of the family since the status of the two was very different: most lemurs showed a satisfactory use of the enclosure and a good interest in all the enrichment behaviour strategies carried out during my observation. The behaviour of most lemurs was very good because similar, in most cases, to the behaviour displayed by lemurs in nature, which is a very important aspect in the reintroduction of captive-bred animals in the wild. I identified all the typical behaviours of the species such as grooming, leaping and jumping on branches, vocalising, marking the territory with their skin glands etc. It was also positive to observe the maintenance of their crepuscular nature: as it occurs in nature, lemurs were more active at early morning and late afternoon-evening. And it was also very important to verify that lemurs spent most of the time on branches: Red Ruffed Lemurs are arboreal animals and if reintroduced in the wild they would become more vulnerable if spending too much time on the ground. (Cook et al., 2000).

But all these considerations are not true for the dominant male Bruno. The

use of the enclosure was different between him and the rest of the family, which spent a lot of time in the open part of the enclosure, while Bruno isolated himself from the rest of the group sitting in the inside part of the enclosure. He also showed to be highly disturbed by the presence of the public, jumping up against the glass every time a person approached the enclosure, which happened continuously throughout the day. The characteristics of this behaviour respond to the ones described in the compulsive-obsessive behaviour typical of highly stressed and bored captive-bred animals (Mendoza et al., 2000).

The results emerged from the faeces analysis show that there are not any significant modifications from the basal cortisol level, which corresponds to a satisfactory behavioural situation for all the subjects of the group except one. (Khan et al., 2002).

Conclusion

The behaviour of all lemurs except one appeared satisfactory from all the points of view taken in consideration (being similar, for most of the time, to the wild lemurs). The observations I carried out made me draw the conclusion that, since most subjects did not show abnormal behaviours or signs of stress, the enclosure seems well structured and those lemurs have well adapted to it. Most animals responded positively also to the enrichment behaviour strategies that were carried out during my study. (Sapolsky, 1990).

But all these conclusions are not valid for the dominant male, Bruno, which often displayed stereotyped movements and often isolated himself from the rest of the group. Also his physical condition was not good (low body condition score, dehydrated fur) but being in a very advanced age (15 years), these problems could be considered as part of the normal ageing process. Medical analysis would be necessary to discover if his bad conditions are caused by physical or other problems, but carrying out medical analysis on a stressed animal would cause an aggravation of his condition, so they are avoided as much as possible in zoos. (Dobson et al., 2000).

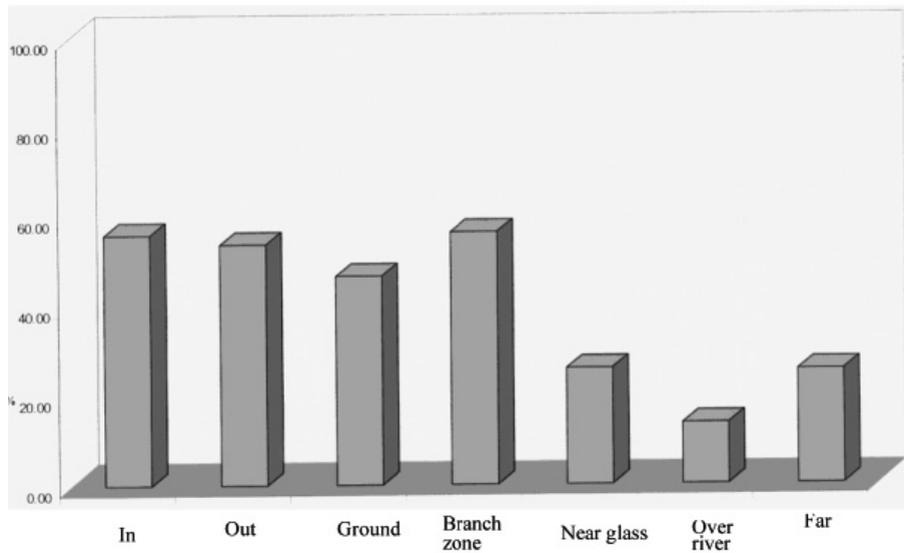
Anyway, considering the history of the animal and considering that stereotyped behaviours are not likely to be caused by physical pathologies, the most likely hypothesis is that his sufferance has been caused by the recent separation between him and the dominant female because of her post-partum metritis. It should also be considered that these abnormal behaviours were absent before the separation and that Red Ruffed Lemurs are highly sociable animals.

Faeces hormonal analysis is a relatively new method that has many advantages compared to the traditional invasive ones (blood sample) but it still has to face many technical obstacles that complicate cortisol level interpretation. This particular study was also limited by the fact that it was not possible to identify the provenance of each faeces sample. Moreover, the lack of this kind of studies on Red Ruffed Lemurs does not permit us to compare the results obtained with normal cortisol level values. (Hau et al., 2001).

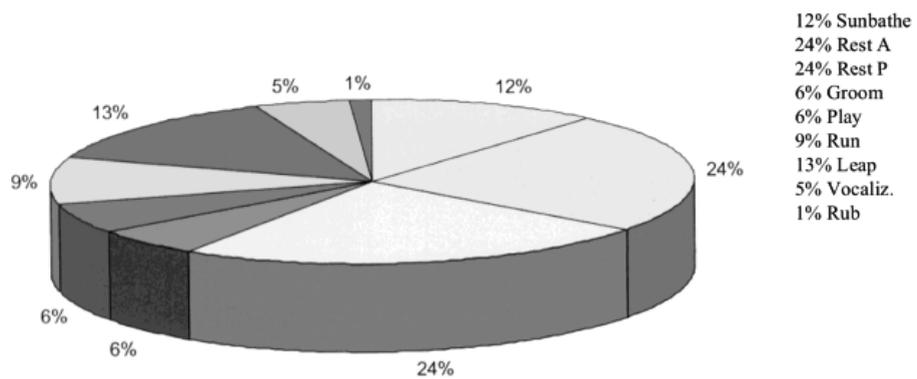
But for the same reason, the results emerged from my study can be useful not

only to complete the studies that were planned at Marwell Zoological Park, but also to give consistence to the data bank of this possible new method of animal welfare evaluation with the use of faeces cortisol levels.

Use of the enclosure



Time percentage spent in different behaviours



Key words: lemurs, animal welfare

Parole chiave: lemuri, benessere animale

Palabras clave: lemures, bienestar animal

RIASSUNTO: i lemuri sono delle singolari proscimmie che esistono su un'unica isola al mondo, il Madagascar, ed anche lì la loro esistenza è seriamente minacciata: dall'arrivo dell'uomo sull'isola (meno di 2000 anni fa), 8 generi e 15 specie di lemuri sono già definitivamente scomparsi. (Tattersall, 1993).

Lo scopo del mio studio è quello di stabilire, in base ad uno studio sul comportamento di un gruppo di Red Ruffed Lemurs allevati presso il Marwell Zoological Park (e con il supporto del dosaggio ormonale delle feci dei lemuri) se la tecnica di allevamento si adattasse bene alle esigenze di questo animale o se fosse necessario incrementare la qualità di vita dei soggetti.

Lo studio ha dimostrato un'ampia variabilità comportamentale ed un soddisfacente utilizzo del recinto per quanto riguarda tutti i componenti del gruppo ad eccezione del maschio dominante, che ha invece dimostrato evidenti segni di stress (comportamenti stereotipati) e di malessere anche fisico (pelliccia arruffata e "body condition score" non ottimale). Per risalire alla causa di questo malessere sarebbe necessario effettuare delle indagini di tipo medico, le quali però sono ridotte al minimo negli zoo dato che causerebbero un aggravamento dello stato di stress del soggetto. (Matteri et al., 2000).

SUMMARY: lemurs are a very original kind of primate that can be found only on the Island of Madagascar. Their existence is facing a very serious threat, in fact 8 genera and 15 species have already become extinct since the arrival of man on the Island of Madagascar, less than 2000 years ago. (Tattersall, 1993).

The aim of this project is to investigate the behaviour of a family of captive-bred Red Ruffed Lemurs and to measure the cortisol level of their faeces to evaluate the quality of the husbandry (enclosure, pattern of behaviour, similarity to the in-situ behaviour) and evaluate if the subjects were living in a condition of well-being or if they were facing any sufferance. (Schapiro et al., 1993).

The study was carried out at Marwell Zoological Park (England) on a family of six Red Ruffed Lemurs. The enclosure was split up in five microhabitats and the most significant behavioural categories to observe were picked up. I used one-zero intervals of four minutes with ad libitum observation from 8.30 a.m. to 18.30 p.m. reaching a total of 80 hours. The results obtained were satisfactory regarding the behaviour of all the subjects except the dominant male that showed physical sufferance and stereotyped behaviours. (Cooper et al., 2000).

Bibliography

AA.VV. 2004. Red Ruffed Lemurs. Sito a cura del Duke University Primate Center. [Http://www.duke.edu/web/primat/bascbiol.html](http://www.duke.edu/web/primat/bascbiol.html).

AA.VV. 2004. Red Ruffed Lemurs. [Http://www.shoarns.com/lemursnotes.html](http://www.shoarns.com/lemursnotes.html)

AA.VV. 2004. Red Ruffed Lemurs. [Http://www.marwell.org.uk](http://www.marwell.org.uk).

AA.VV. 2004. Red Ruffed Lemurs. [Http://wwwsfzoo.org/cgi_bin/animals.py](http://wwwsfzoo.org/cgi_bin/animals.py).

- AA.VV.** 2004. Red Ruffed Lemurs. [Http://www.org/educate/facts_sheets/r_lemur](http://www.org/educate/facts_sheets/r_lemur)
- Cavigelli S.A.** 1999. Behavioural patterns associated with faecal cortisol levels in free ranging female ring-tailed lemurs, *lemur catta*. *Animal Behaviour*. 57:935-944.
- Cook C.J., Mellor D.J., Harris P.J., Ingram J.R., Matthews L.R.,** 2000. Hands-on and hands off measurement of stress. In: the *Biology of Animal Stress: Basic Principles and Implications for Animal Welfare*, 2000, Eds: Moberg G.P., Mench J.A. CAB INTERNATIONAL, Oxon, UK, pp.123-158.
- Cooper J.J., Mcdonald L., Mills D.S.,** 2000. The effect of increasing visual horizons on stereotypic weaving: implications for the social housing of stabled horses. *Applied Animal Behaviour Science* 69: (1) 67-83.
- Dobson H., Smith R.F.** 2000. What is stress and how does it affect reproduction? *Animal Reproduction Science* 60-61: 743-752.
- Doyle G.A. and Martin R.D.** 1979. The study of Prosimian Behaviour. Cap. 2,4,6,7,8,9,10,11,12. Academic press, New York, San Francisco, London.
- Durrell G.** 1992. Io e i lemuri. Adelphi edizioni, SPA, Milano.
- Hau J., Andersson E., Carlsson H.E.** 2001. Development and validation of a sensitive ELISA for quantification of secretory IgA in rat saliva and faeces. *Laboratory Animals* 35 (4): 301-306.
- Kerridge F.J.** 1996, Behavioural enrichment of *ruffed lemurs* (*varecia variegata*) based upon a wild-captive comparison of their behaviour. Doctor of Philosophy thesis. Bolton Institute.
- Khan M.Z., Altmann J., Isani S.S., Yu J.** 2002. A matter of time: evaluating the storage of fecal samples for steroid analysis. *General and Comparative Endocrinology* 128 (1): 57-64.
- Ladewig J.** 2000. Chronic intermittent stress: a model for the study of long term stressors. *The Biology of Animal Stress: Basic Principles and Implications for Animal Welfare*, 2000, Eds: Moberg G.P., Mench J.A. CAB. INTERNATIONAL, Oxon, U.K, pp. 159-169.
- Martin P. and Bateson P.** 1986. *Measuring Behaviour*. Cambridge University Press. Cambridge. U.K.
- Mason G.J.** 1991. Stereotypes: a critical review. *Animal Behaviour* 41, 1015-1037.

Matteri R.L., Carroll J.A., Dyer C.J. 2000. Neuroendocrine responses to stress. In: *The Biology of Animal Stress: Basic Principles and Implications for Animal Welfare*, 2000, Moberg G.P., Mench J.A.(Eds).

Mendoza S.P., Capitanio J.P. and Mason W.A. 2000. Chronic social stress: studies in non-human primates. In *the biology of animal stress: basic principles and implications for animal welfare*, G.P. Moberg, and J.A. Mench (eds), 227-243.

Sapolsky R.M. 1982. The endocrine stress response and social status in the wild baboon. *Hormones and Behav.* 16: 279-292.

Sapolsky R.M. 1990. Lo stress in natura. *Le scienze.* 259: 66-72.

Schapiro S.J. et al. 1993. Effects of enrichment and housing on cortisol response in juvenile rhesus monkeys. *Applied Animal Behaviour Science*, 37: 251-263.

Stevens J. 1993. Third year project on the influence of environmental enrichment on *red ruffed lemurs* in a zoo environment. United Kingdom.

Tattersall I. 1993. I lemuri del Madagascar. *Le Scienze* n° 295, 64-71.

Tattersall I. 1993. Lemurs of Madagascar. Pag.15-75. R.A.Mittermeier Editor, Conservation International, USA.

Whitten P.L., Stavisky R.C., Aureli F., and Russell E. 1998a. Response of fecal cortisol to stress in captive chimpanzees (*Pan troglodytes*). *Am. J. Primatol.* 44: 57-69.

LIVELLI EMATICI DI PROGESTERONE A SEGUITO DI SINCRONIZZAZIONE DELL'OVULAZIONE (OVSYNCH) CON GnRH O hCG IN BOVINE DURANTE IL PERIODO ESTIVO

EFFECT OF hCG ADMINISTRATION ON PLASMA PROGESTERONE PLASMA LEVELS AFTER SNCHRONIZATION OF OVULATION (OVSINCH) WITH GnRH OR hCG IN DAIRY COW DURING HOT SEASON

¹De Rensis F., ²Valentini R., ²Gorrieri F., ³Huseniczka Gy.

Riassunto

Lo scopo di questo studio è stato quello di valutare l'effetto della somministrazione di hCG in un protocollo di sincronizzazione del calore (ovsynch) durante il periodo estivo in vacche da latte. Per questo scopo 40 bovine sono state suddivise in due gruppi di 20 animali ciascuno e trattati o con il tipico protocollo Ovsynch (Gruppo GPG): (GnRH (g0), PGF2alfa (g7) e GnRH (g9), o con l'hCG al posto della seconda somministrazione di GnRH (Gruppo GPH): (GnRH (g0), PGF2alfa (g7) e hCG (g9). Tutti gli animali sono stati inseminati 16-22 ore dall'ultimo trattamento. Sono stati effettuati prelievi ematici al 3°-6°-9°-12° e 15° giorno dalla FA. Per valutare l'attività ovarica sono state eseguite una serie di ecografie al 9° e 15° giorno dopo la F.A. Il tasso di gravidanza al 32° giorno dalla FA è stato del 60% e del 50% rispettivamente per il gruppo GPG e GPH; al 60° giorno dalla FA è stato del 40% per il gruppo GPG e del 50% per il gruppo GPH. I livelli ematici di progesterone tendenzialmente sono stati più elevati nel gruppo GPH ma questa differenza non è risultata significativa. Nel gruppo GPH si sono osservati dei corpi lutei accessori. In conclusione i risultati di questo studio indicano che l'utilizzo dell'hCG al posto del GnRH in un protocollo di sincronizzazione ed induzione dell'ovulazione durante il periodo estivo non incrementa significativamente i livelli plasmatici di progesterone ma porta alla formazione di corpi lutei accessori e riduce le perdite embrionali.

Parole chiave: Bovine, ovsynch, GnRH, hCG

Introduzione

A seguito dei recenti sviluppi nel campo della induzione-sincronizzazione dell'estro è stato messo a punto un protocollo di sincronizzazione detto "Ovsynch" per cui si può praticare la F.A. a tempo pre-determinato (Timed Artificial Insemination,

¹ Dipartimento di Salute Animale, Facoltà di Medicina Veterinaria, Parma, Italy;

² Studio Medico Veterinario;

³ Faculty of Veterinary Science, Szent István University, Budapest, Hungary.

TAI) senza la necessità di rilevare l'estro (Pursley et al., 1995, 1997; Schmitt et al., 1996; Twagiramungu, 1996; De Rensis et al., 2000). Il protocollo Ovsynch è basato sulla somministrazione di GnRH, seguito dalla PGF2 α 7 giorni dopo e quindi da una seconda somministrazione di GnRH 48 ore più tardi. La fecondazione artificiale (FA) viene eseguita senza il rilevamento del calore 16-22 ore dopo la seconda somministrazione di GnRH.

La somministrazione esogena di GnRH induce un picco preovulatorio di LH che generalmente ha una durata ridotta e con livelli ematici di LH più bassi rispetto a quelli di un normale picco preovulatorio (Chenault et al., 1990; Rahe et al., 1980; Chenault et al., 1975). Questo fatto può causare un insufficiente sviluppo del corpo luteo e di conseguenza la produzione di bassi livelli di progesterone.

Un ormone che può essere utilizzato per indurre l'ovulazione e la formazione di un corpo luteo funzionale è l'hCG (Schmitt et al. 1993, 1994; Diaz et al. 1998; Farin et al., 1998; Prince et al., 1989; Rajamahendran et al., 1992; Schmitt et al., 1993, 1996; Sianangama et al., 1996). E' stato riportato che la somministrazione di hCG rispetto a quella di GnRH stimola la formazione di un corpo luteo con una capacità di secernere maggiori quantità di progesterone ed è caratterizzato da una emivita più lunga, infatti la somministrazione di hCG a pecore, suini e a bovini (Farin et al., 1988; Helmer et al., 1987; Sianangama et al., 1994) porta ad un aumento del numero di cellule luteiniche grandi ed ad una concomitante riduzione nel numero di cellule luteiniche piccole, oltretutto alla formazione di corpi lutei accessori. Tutto questo determina un aumento della concentrazione plasmatica di progesterone (Bruel et al., 1989; Fricke et al., 1993; Schmitt et al., 1996a; Diaz et al., 1998; Sianangama e Rajamahendran, 1994, 1996).

In conclusione dall'analisi di questi elementi, emerge che la grande attività LH-simile dell'hCG rispetto alla somministrazione di GnRH induce una migliore luteinizzazione del follicolo ovulatorio dopo la descesa follicolare con una conseguente maggior produzione di progesterone.

Nella specie bovina durante il periodo estivo-autunnale vi è un aumento dell'infertilità. Durante l'estate infatti gli animali si trovano ad affrontare un fattore stressante rappresentato dall'alta temperatura che porta ad una minore ingestione di alimento ed ad un peggioramento dei parametri riproduttivi (De Rensis et al., 2003). Sarebbe quindi molto importante mettere a punto dei protocolli di sincronizzazione che aiutino a ridurre il problema l'infertilità estiva nell'azienda bovina.

Lo scopo di questo studio è stato quello di valutare se la somministrazione di hCG, al posto del GnRH, in un protocollo di tipo Ovsynch sia in grado di determinare la formazione di un corpo luteo più funzionale, un aumento dei livelli ematici di progesterone e ridurre le perdite embrionali.

Materiali e metodi

Animali e trattamenti

L'esperimento è stato condotto in una Azienda da 100 vacche di razza Frisona pluripare della provincia di Reggio Emilia nel periodo compreso tra Luglio

e Agosto 2003 e 2004. Gli animali sono allevati a stabulazione libera con cuccette, divise in quattro box da 25 capi l'uno, con un'alimentazione tipo unifeed e munti due volte al giorno.

All'inizio della prova è stato valutato il BCS degli animali attraverso una scala di punti da 1, estremamente magro a 5, estremamente grasso. Una volta valutato il BCS si sono utilizzati solo animali con un BCS compreso tra 2.75 e 3.5 in modo da evitare che fattori metabolici-nutrizionali dell'animale potessero interferire con la sperimentazione. Per l'analisi dei dati si è tenuto in conto anche delle variazioni di BCS intervenute durante la prova. Per la prova sono state quindi individuate 40 vacche tra il 60° e l'80° giorno post-partum che presentavano un follicolo dominante associato ad un corpo luteo di inizio ciclo e suddivise a random in due gruppi da 20 capi ciascuno, e così trattati:

Gruppo GPG:

- giorno 0 Receptal® (Buserelin acetato) 2.5 ml/capo i.m.
- giorno 7 Prosolvin® (Luprostiol) 2 ml/capo i.m.
- giorno 9 Receptal® (Buserelin acetato) 2.5 ml/capo i.m.
- F.A. 16-22 ore dopo.

Gruppo GPH:

- giorno 0 Receptal® (Buserelin acetato) 2.5 ml/capo i.m.
- giorno 7 Prosolvin® (Luprostiol) 2 ml/capo i.m.
- giorno 9 Corulon® (hCG) 3300U.I./capo i.m.
- F.A. 16-22 ore dopo.

Sono stati eseguiti prelievi ematici dalla vena coccigea ai giorni 3°, 6°, 9°, 12° e 15° dopo la F.A. Dopo il prelievo i campioni ematici sono stati centrifugati a 5000g/min ed il plasma così ottenuto è stato conservato a -20°C fino al momento della esecuzione delle analisi effettuate mediante analisi radioimmunologica.

Per valutare l'attività ovarica sono state eseguite una serie di ecografie al 9° e 15° giorno dopo la F.A. mediante l'utilizzo di una ecografo Aloka 500 dotato di sonda da 7.5MHz per uso rettale. La diagnosi di gravidanza è stata fatta al 32° giorno dopo la F.A. attraverso visita ecografica e al 60° giorno attraverso visita manuale.

Il tasso di gravidanza è stato definito come il numero di vacche trattate che hanno partorito.

Analisi statistica

Differenze nell'intervallo parto-concepimento, il BCS e il numero dei parti sono stati analizzati utilizzando la procedura General Linear Model di SPSS (SPSS per Windows versione 10.0). Differenze nel numero di gravidanze sono state esaminate utilizzando il test del chi quadrato.

Le concentrazioni plasmatiche di progesterone e le variazioni di BCS sono state analizzate mediante l'analisi "repeat measure analysis", ANOVA, statistical package SAS.

Risultati

Non ci sono state differenze significative nel Body Condition Score (BCS) tra gli animali ($P=0.235$) (2.75 ± 0.25 e 2.79 ± 0.21 tra l'inizio e la fine della prova per il gruppo GPG e 2.35 ± 0.55 e 2.15 ± 0.45 tra l'inizio e la fine della prova per il gruppo GPH).

L'indagine ecografica eseguita il giorno della FA per verificare la presenza del follicolo ovulatorio ha dato i seguenti risultati: gruppo GPG: 18 animali su 20 presentavano un follicolo ovulatorio, uno presentava un corpo luteo e uno nessuna attività; Gruppo GPH: 18 animali su 20 presentavano un follicolo ovulatorio, un animale non presentava strutture apprezzabili sull'ovaio e uno un corpo luteo. Le indagini ecografiche nei giorni successivi ha evidenziato la formazione di corpi lutei accessori (in media 2) negli animali del gruppo GPH.

Il tasso di gravidanza al 32° giorno dopo la TAI è stato del 50% per il gruppo GPH e del 60 % per il gruppo GPG, mentre al 60° giorno rimane al 50 % per il gruppo GPH ma scende al 40 % per il gruppo GPG, suggerendo così che nel gruppo GPG ci siano stati dei riassorbimenti embrionali

Tendenzialmente i livelli ematici di progesterone sono stati più elevati nel gruppo GPH rispetto al gruppo GPG ma queste differenze non sono risultate significative ($P<0.65$) (Fig.1).

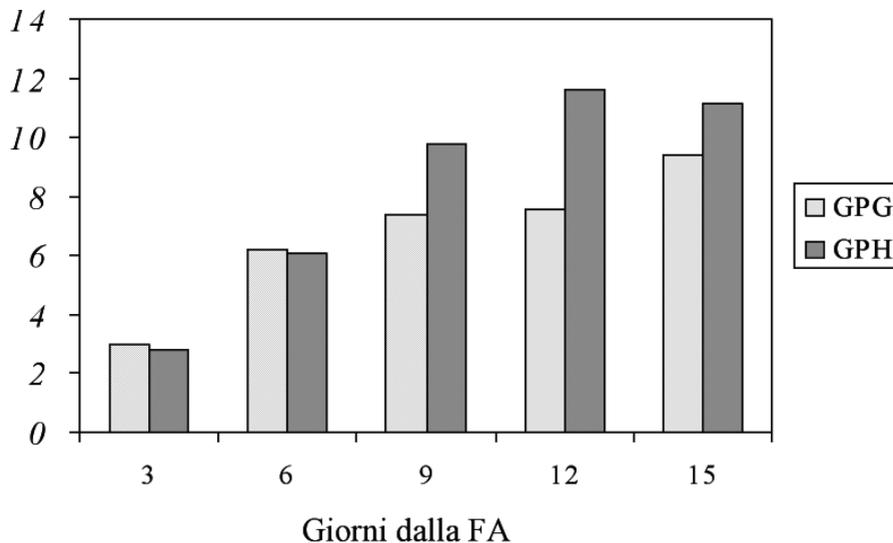


Fig. 1. Livelli ematici di progesterone nei giorni successivi alla FA nel gruppo GPG e GPH.

Discussione

Lo scopo di questa prova sperimentale è stato quello di valutare se la somministrazione di hCG per indurre l'ovulazione in un protocollo di tipo Ovsynch applicato nel periodo estivo fosse in grado di aumentare la concentrazione plasmatica di progesterone rispetto al GnRH. Le concentrazioni plasmatiche di progesterone sono maggiori nel gruppo trattato con l'hCG ma tale differenza non è risultata significativa; potrebbe diventarlo nei giorni successivi come dimostrato da Rajamahendran et al., (1992) in uno studio in cui veniva somministrato l'hCG durante diverse fasi del ciclo estrale.

In questo studio, a seguito della somministrazione di hCG (gruppo GPH), è stata osservata la formazione di corpi lutei accessori. Il significato funzionale di queste strutture non è chiaro, ma presumibilmente nei giorni successivi alla prova potrebbero aver incrementato i livelli ematici di progesterone e quindi ridotto le perdite embrionali rilevate in questo gruppo.

In conclusione i risultati di questo studio indicano che l'utilizzo dell'hCG al posto del GnRH in un protocollo di sincronizzazione ed induzione dell'ovulazione nella bovina tendenzialmente induce un aumento dei livelli plasmatici di progesterone ma fino al 15° gg dalla FA tali livelli non sono significativamente differenti. Il trattamento con hCG induce la formazione di corpi lutei accessori che possono ridurre le perdite embrionali.

Ringraziamenti

Questo lavoro è stato eseguito con un supporto finanziario FIL 2004 e del Ministero degli Esteri, programma Scient & Tecnol. Italia-Vietnam 2002-2005 (prot n°269/1966).

I prodotti utilizzati in questo lavoro sono stati forniti dalla Intervet Italia.

Bibliografia

1. Bruel KF, Spitzer JC., Henricks DM. Systemic progesterone concentration following human chorionic gonadotropin administration at various times during the estrous cycle in beef heifers. *J. Anim. Sci*, 67:1564-1572,1989.
2. Chenault JR, Kratzer DD, Rzepkowski RA, Goodwin MC. LH and FSH response of Holstein heifers to fertilerin acetate, gonadorelin and buserelin. *Theriogenology*, 34:81-86, 1990.
3. De Rensis F., Marconi P., Capelli T., Gatti F., Facciolongo F., Franzini S., Scaramuzzi RJ. (2002). Fertility in post-partum dairy cows in winter or summer following estrus synchronization and fixed time A.I. after the induction of an LH surge with Gonadotropin releasing hormone (GnRH) or human chorionic gonadotropin (hCG). *Theriogenology*, 58:1675-1687,2002.
4. De Rensis F., Scaramuzzi JR (2003) Heat stress and seasonal effects on reproduction in the dairy cow-a review. *Theriogenology*, 60: 1139-1151,2003.

5. Diaz t., Schmitt EJ-P, de la Sota RL., Thatcher MJ, Thatcher WW . Human chorionic gonadotropin-induced alteration in ovarian follicular dynamics during the estrous cycle of heifers. *J. Anim. Sci*, 76:1929-1936,1998.
6. Farin CE, Moeller CL, Mayan H, Gamboni F, Sawyer HR, Niswender GD. Effect of luteinizing hormone and human chorionic gonadotropin on cell populations in the ovine corpus luteum. *Biol Reprod*, 38:413-421,1988.
7. Fricke PM, Reynolds LP, Dale AR. Effects of human chorionic gonadotropin administered early in estrus cycle on ovulation and subsequent luteal function in cows. *J Anim Sci* , 71:1242-1246,1993.
8. Helmer SD, Britt JH. Hormone secretion and characteristics of estrus cycles after treatment of heifers with human chorionic gonadotrophin or prostaglandin F₂ during corpus luteum function. *J Anim Sci*, 64:782-789,1997.
9. Prince CA, Webb R. Ovarian response to hCG treatment during the estrous cycle in heifers. *J Reprod Fert*, 86:303-310,1989.
10. Pursley JR, Mee MO, Wittbank MC. Synchronization of ovulation in dairy cows using GnRH and GnRH. *Theriogenology*, 44:915-923,1995.
11. Pursley JR, Wittbank MC, Stevenson JS, Ottobre JS, Gavarrick HA, Anderson LL. Pregnancy rates per artificial insemination for cows and heifers inseminated at synchronized ovulation or synchronized estrus. *J Dairy Sci* , 80:295-300,1997.
12. Rahe CH, Owens RE, Fleeger JL, Newton HJ, Harms PG. Pattern of plasma luteinizing hormone in the cyclic cow: dependent upon the period of the cycle. *Endocrinology*, 107:498-503,1980.
13. Rajamahendran R, Sianangama PC. Effect of human chorionic gonadotrophin (hCG) on dominant follicles in cows: Accessory corpus luteum formation, progesterone production and pregnancy rate. *J Reprod Fert*, 95:577-584,1992.
14. Schmitt, EJ-P, Diaz T, Barros CM, de la Sota RL, Drost M, Fredriksson EW, Staples CR, Thorner R, Thatcher WW. Differential response of the luteal phase and fertility in cattle following ovulation of the first-wave follicle with human chorionic gonadotropin or an agonist of gonadotropin-releasing hormone. *J Anim Sci*, 74:1074-1083,1996a.
15. Schmitt EJ-P, Barros CM, Fields PA, Fields MJ, Diaz T, Kluge JM, Thatcher WW. A cellular and endocrine characterization of the original and induced corpus luteum after administration of a gonadotropin-releasing hormone agonist or human chorionic gonadotropin on Day 5 of the estrous cycle. *J Anim Sci*, 74:1915-1929,1996b.
16. Schmitt EJ-P, Diaz T, Drost M, Fredriksson EW, Thatcher WW. Use of a gonadotropin-releasing hormone or human chorionic gonadotropin for timed insemination in cattle. *J Anim Sci* ,74:1084-1091,1996c.
17. Sianangama PC. The Characteristics of Corpora Lutea Induced by hCG in Cattle. PhD Dissertation. University of British Columbia, Vancouver, 1994.
18. Sianangama PC, Rajamahendran R. Effect of hCG administration on Day 7 of the estrous cycle on follicular dynamics and cycle length in cows. *Theriogenology*, 45:583-592,1996.
19. Twagiramungu H, Guibault LA, Proulx J, Dufor JJ. Synchronization of estrus and fertility in beef cattle with two injections of Buserelin and prostaglandin. *Theriogenology*,38:1131-1137,1992.

INTRODUZIONE ALLO STUDIO CASO-CONTROLLO IN EPIDEMIOLOGIA

Stefano Parodi¹, Ezio Bottarelli²

Introduzione

Secondo la definizione di Kleinbaum et al. (1982) l'Epidemiologia è "la scienza che studia lo stato di salute o di malattia nelle popolazioni umane". La definizione può essere estesa anche al settore della medicina veterinaria, essendo gli scopi primari dell'epidemiologia umana e veterinaria sostanzialmente i medesimi. Secondo Thrusfield (1995) i campi d'azione dell'epidemiologia si riferiscono, in sintesi, a: 1) acquisire informazioni riguardo alla storia naturale delle malattie e descrivere lo stato di salute di popolazioni nello spazio e nel tempo, anche stimando il numero di nuovi eventi come, ad esempio, i malati o i morti; 2) individuare l'origine delle malattie la cui causa è ignota e ridurre la frequenza delle malattie la cui causa è nota; 3) pianificare e monitorare i programmi di controllo delle malattie; 4) valutare i danni economici delle malattie e calcolare il rapporto costi/benefici delle azioni di controllo.

Tali obiettivi possono essere raggiunti con una varietà di disegni di studio e di approcci metodologici, che si avvalgono tutti di misurazioni di eventi sanitari, di cui le principali sono: l'incidenza, la mortalità e la prevalenza.

L'**incidenza** misura l'insorgere di nuovi eventi, quasi sempre nuovi casi di malattia oppure segni clinici. Viene quindi calcolata in relazione al trascorrere del tempo, in genere sotto forma di velocità media con cui gli eventi si producono. Tale velocità viene chiamata tasso medio o, più semplicemente, tasso (in inglese, "*rate*").

La **mortalità** è del tutto analoga all'incidenza, di cui rappresenta in molti studi un surrogato, in mancanza di informazioni sulla condizione di malattia nella popolazione in studio. L'analogia ovviamente consiste nel fatto che si tratta di un evento di transizione da uno stato ad un altro (soggetto vivo vs. deceduto, oppure soggetto sano vs. malato). La differenza fondamentale è che l'incidenza non viene sempre considerata come evento irreversibile, potendosi verificare più volte nel corso dell'osservazione (ad esempio, nel caso di tumori multipli, di recidive, oppure di ricomparsa della stessa patologia nello stesso individuo), mentre l'evento "morte" produce necessariamente l'uscita del soggetto dall'osservazione ("periodo a rischio"). Per quanto riguarda l'incidenza, tale esclusione può essere o meno effettuata a seconda del disegno dello studio.

¹ Istituto G.Gaslini. Sezione Epidemiologia e Biostatistica, Direzione Scientifica. Largo G. Gaslini 5, 16147 GENOVA. e-mail: stefanoparodi@ospedale-gaslini.ge.it

² Università degli Studi di Parma, Dipartimento di Salute Animale. Via del Taglio 10, 43100 PARMA. e-mail: ezio.bottarelli@unipr.it

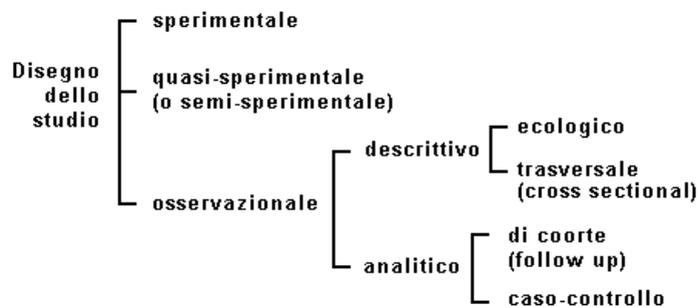
La **prevalenza** rappresenta la presenza di una determinata condizione (di solito una malattia oppure un'esposizione) in un determinato istante temporale (ad esempio, il 1 gennaio di un determinato anno). Viene misurata in genere sotto forma di proporzione o di percentuale; ad esempio, la proporzione di animali risultati positivi all'intradermoreazione alla tubercolina in una mandria di bovini.

Il tipo di misura da adottare e il suo utilizzo nell'ambito di un'indagine epidemiologica variano a seconda del disegno dello studio, che a sua volta è condizionato dagli obiettivi dell'indagine, dalla disponibilità di risorse (costi, personale, tempo di esecuzione, ecc.), e da altre considerazioni inerenti la fattibilità, fra le quali rientrano, in medicina umana, anche problematiche di tipo etico.

I principali disegni di studio in Epidemiologia

I principali disegni di studi epidemiologici sono riassunti nello Schema 1. Essi possono essere classificati sulla base della possibilità del ricercatore di manipolare il fattore in studio, ad esempio l'esposizione (in soggetti sani) oppure la somministrazione di farmaci (a soggetti malati). Si distinguono quindi tre grandi categorie (Kleinbaum et al., 1982):

- a) studi sperimentali
- b) studi quasi sperimentali (o semi sperimentali)
- c) studi osservazionali.



Schema 1 – Principali disegni di studio epidemiologico.

Gli **studi sperimentali** (o, semplicemente, esperimenti) sono indagini in cui la distribuzione del fattore in studio viene decisa dallo sperimentatore, attraverso una procedura denominata randomizzazione. Tale procedura consiste nell'assegnare in modo casuale il fattore (ad esempio un trattamento rispetto ad un placebo) nei soggetti in studio. I principali studi sperimentali sono i test di laboratorio, le sperimentazioni cliniche (*clinical trials*) e gli interventi di comunità (*community intervention*). Il loro vantaggio principale risiede nella possibilità di isolare gli effetti di interesse dai fattori estranei che possono influenzare le stime osservate, detti fattori di confondimento

(*confounders*), persino nel caso in cui questi non siano completamente noti. Infatti la procedura della randomizzazione dovrebbe assicurare una loro ripartizione omogenea. Per tale motivo gli studi sperimentali sono considerati come altamente probanti l'associazione tra un fattore in studio e una determinata risposta (ad esempio fra trattamento farmacologico e remissione della patologia). Tuttavia, in moltissime indagini, per ragioni sia etiche che di ordine pratico, la randomizzazione non può essere effettuata. Ad esempio, sarebbe eticamente inaccettabile sottoporre un gruppo di pazienti umani ad una terapia dall'efficacia incerta o ignota per il trattamento di una malattia per la quale esiste già un farmaco sicuramente attivo. E' quindi evidente che, in molti casi, diviene necessario ricorrere ad altre tipologie di studio. Tra queste, gli **studi semi-sperimentali** sono caratterizzati dalla possibilità di manipolare il fattore in studio, senza però utilizzare la randomizzazione. Ciò può avvenire, ad esempio, quando ogni soggetto in un solo gruppo viene osservato prima e dopo un determinato trattamento oppure, nell'epidemiologia umana, quando il fattore in studio viene rilevato su soggetti volontari. Gli studi semi-sperimentali comprendono alcuni studi di laboratorio, *clinical trials*, e studi di valutazione degli interventi di politica sanitaria (ad esempio, introduzione di un limite di velocità, adozione di un divieto al fumo in luoghi pubblici, ecc...).

Gli **studi osservazionali** sono indagini in cui il ricercatore non può manipolare il fattore in studio. In tali indagini l'osservazione viene condotta in modo da assomigliare il più possibile ad un esperimento (osservazione pianificata). Ad esempio, è possibile selezionare due gruppi di bovine in lattazione, abitualmente sottoposte a due differenti tipi di mungitura, e seguirli entrambi nel tempo per verificare se vi sono differenze nella comparsa di mastite.

Gli studi osservazionali possono essere distinti in due grandi categorie: a) gli studi descrittivi, che comprendono lo studio ecologico (spesso considerato come lo studio descrittivo "per eccellenza") e lo studio trasversale (*cross-sectional*); b) gli studi analitici, tra cui i più importanti sono lo studio di coorte e lo studio caso-controllo. Gli studi analitici rivestono grande importanza in quanto sono considerati probanti e possono essere condotti in situazioni in cui la distribuzione del fattore in studio (tipicamente un'esposizione) non può essere controllata dal ricercatore. Lo studio di coorte, o studio di *follow-up*, è considerato lo studio analitico per eccellenza, nel senso che permette di osservare l'insorgenza della patologia dopo l'avvenuta esposizione, di misurare quindi i tempi di esposizione e di ottenere stime di associazione tra esposizione e occorrenza di una determinata patologia, confrontando gruppi ("coorti") di esposti e di non-esposti. Tuttavia, in alcune condizioni lo studio di coorte può essere di difficile realizzazione. In particolare, per lo studio di patologie a lunga latenza può necessitare di un tempo di osservazione estremamente prolungato. Inoltre, esso comporta costi piuttosto elevati e presenta il limite di poter indagare una sola (o pochissime) esposizioni alla volta, per cui in genere non può essere impiegato per generare nuove ipotesi. Al contrario, lo studio caso-controllo, anche se molto più esposto al rischio della presenza di fattori che possono introdurre distorsioni sistematiche (denominate "*bias*") nelle stime, presenta il vantaggio di risultare realizzabile in condizioni in cui lo studio di coorte non può essere effettuato, ad esempio quando non si conosce la dimensione della popolazione in studio.

I principali stimatori nell'Epidemiologia Osservazionale

Dal momento che le indagini epidemiologiche vengono effettuate su campioni, i cui parametri calcolati rappresentano una stima statistica dei parametri di una popolazione generale, tali variabili vengono anche chiamate “stimatori”. La presente trattazione sarà focalizzata su variabili che sono associate alla probabilità di contrarre una determinata patologia (o altro evento ad essa correlato, come la comparsa di sintomi, la morte del soggetto, ecc.) in un periodo determinato di osservazione. Alcuni studi hanno semplicemente uno scopo descrittivo e si limitano alla produzione di misure di frequenza. Tuttavia, gran parte delle indagini epidemiologiche mira a stimare l'associazione tra determinate esposizioni e probabilità di contrarre una determinata patologia, tipicamente rispetto ad un gruppo di riferimento costituito da soggetti non esposti o poco esposti. Tali studi forniscono quindi misure di associazione.

A) Misure di frequenza

Le principali misure di frequenza in Epidemiologia sono: il rischio, l'odd e il tasso.

Il **rischio** viene definito come probabilità di transizione (in genere di incidenza o di morte) condizionata al tempo di osservazione. Il rischio si riferisce ad un evento che potrà accadere in futuro; essendo definito in termini di probabilità, assume valori compresi fra 0 e 1 ed è adimensionale, ovvero viene espresso sotto forma di un numero puro (privo di unità di misura), talvolta moltiplicato per cento ed espresso quindi come percentuale. Può essere anche denominato rischio cumulativo, in quanto rappresenta una probabilità cumulativa nel tempo, oppure rischio istantaneo quando misurato in un intervallo temporale molto limitato, approssimabile ad un istante.

L' **odd** rappresenta il rapporto tra una probabilità (in genere stimata da una proporzione) e il suo complemento a 1. In Epidemiologia vengono ampiamente impiegati: (a) l'odd di rischio, definito come il rapporto tra il rischio ed il suo complemento a 1, (b) l'odd di prevalenza, ottenuto dal rapporto tra la proporzione di soggetti affetti da una determinata patologia (casi prevalenti), rispetto a quelli non affetti³, (c) l'odd di esposizione, ottenuto dal rapporto tra la proporzione di esposti e di non esposti.

Il **tasso** rappresenta una misura della transizione nel tempo da uno stato ad un altro, tipicamente dallo stato di non-malattia a quello di malattia negli studi di incidenza, oppure dallo stato di vivo a quello di deceduto negli studi di mortalità. Viene definito a partire dal concetto fisico di velocità, di cui in inglese condivide il nome (*rate*), ove rappresenta la variazione dello spazio percorso nel tempo. Si tratta in genere di una misura definita entro un intervallo di tempo finito, per cui viene denominato anche tasso medio. Ad esempio il numero di nuove diagnosi (casi incidenti) di una determinata patologia ogni centomila abitanti per anno di osservazione, oppure il numero di morti per una specifica causa, sempre riferito ad

³ Oppure, più semplicemente, dal numero di malati diviso quello dei non malati.

una determinata popolazione e ad un tempo di osservazione (tasso di mortalità). Il tasso medio viene anche denominato “densità di incidenza”. Mentre il rischio misura la probabilità di un determinato evento, e può essere riferito ad un singolo individuo (rischio individuale), il tasso misura la variazione dell’occorrenza di tale evento nel tempo, e viene riferito sempre ad un insieme di soggetti e ad una misura dell’andamento temporale (in genere anni di osservazione). La differenza concettuale tra tasso e rischio può risultare più chiara mediante un esempio: per un soggetto di 60 anni d’età di una determinata popolazione, la probabilità di morte entro i prossimi 30 anni potrebbe essere del 90%, mentre il tasso di mortalità generale per gli individui di 60 anni di età della stessa popolazione potrebbe essere dell’ordine di alcune centinaia di eventi ogni 100 000 abitanti per anno di osservazione⁴.

Il tasso istantaneo misura la variazione della condizione studiata in un intervallo temporale molto limitato, cioè approssimabile ad un istante. Riprendendo l’analogia con il concetto di velocità, il tasso istantaneo è simile alla misura che un automobilista rileva sul contachilometri (che indica la velocità istantanea), mentre il tasso medio è analogo alla velocità media tenuta in un percorso. Dal punto di vista epidemiologico, il tasso istantaneo è un’astrazione concettuale, utile per la modellazione statistica dei dati. Infatti mentre in fisica si può parlare di variazione istantanea dello spazio percorso, in quanto si tratta di una quantità continua, in epidemiologia si misura quasi sempre una quantità discreta (numero di eventi). Il concetto di tasso istantaneo viene impiegato negli studi di sopravvivenza, in cui viene denominato *hazard*. Più in generale, tale concetto può essere utilizzato per ricavare analiticamente le relazioni tra tasso medio e rischio. Infatti, considerando di seguire nel tempo una popolazione sana fissa, cioè definita in un preciso momento oltre il quale non entrano nello studio nuovi soggetti, se si studiano eventi irreversibili (morte o prima incidenza), la popolazione potrà solamente diminuire, in quanto i soggetti escono progressivamente dallo studio per avvenuto decesso o insorgenza della malattia, ma nessun altro individuo entra nell’analisi. Nel tempo, quindi, la proporzione di soggetti che rimangono nella popolazione tenderà a diminuire in dipendenza dell’intensità della mortalità o dell’incidenza.

Assumendo che la variazione della popolazione tra il tempo 0 e il tempo t sia approssimativamente proporzionale alla popolazione stessa, si ottiene la seguente relazione tra rischio R e tasso λ , ove “e” rappresenta il numero di Nepero (2.7183). La dimostrazione formale della relazione è riportata in Appendice 1.

$$R_{0,t} = 1 - e^{-\lambda t}$$

Dalla suddetta relazione si deduce che, se l’incidenza è (almeno approssimativamente) costante nel tempo, il rischio di una popolazione chiusa

⁴ Naturalmente tale tasso aumenterà all’aumentare dell’età anagrafica e potrà essere studiato seguendo le singole generazioni fino alla morte (ovvero, “per coorti”), oppure osservando le persone di una determinata età che si presentano in una popolazione (ovvero “per contemporanei”). Tale distinzione comunque non interessa il disegno di studio caso-controllo.

presenta una relazione esponenziale inversa con il tasso (che in questo caso è sia tasso medio che istantaneo, dato che si assume costante nel tempo). Tale relazione viene illustrata nella Figura 1, in cui si evidenzia come il rischio nel tempo aumenti più rapidamente per tassi elevati. Si noti che, per piccoli valori di R e t (vicini all'origine), la relazione tra le variabili è quasi lineare, per cui vale la seguente approssimazione, che trova impiego negli studi di patologie a bassa incidenza, quali le malattie cronico-degenerative:

$$R_{0,t} \cong \lambda \cdot t$$

La dimostrazione formale di tale relazione è riportata nella parte finale dell'Appendice 1.

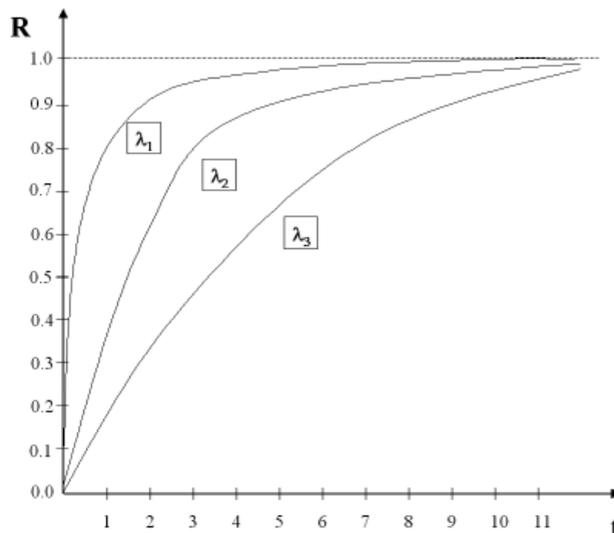


Figura 1– Andamento del rischio in funzione del tempo e di tre diversi tassi (con $\lambda_1 > \lambda_2 > \lambda_3$).

B) Misure di associazione

Le misure di associazione forniscono una stima della forza della relazione statistica che lega un fattore in studio al verificarsi di una determinata patologia e vengono quindi utilizzate per produrre inferenza causale. Tuttavia, non è sufficiente produrre una misura di associazione statisticamente significativa tra un'esposizione e una misura di occorrenza di patologia per dimostrare la causalità di tale associazione.

Il punto cruciale di molte indagini è l'individuazione di un gruppo di soggetti

non esposti o, se ciò non è possibile, a basso livello di esposizione, che si ritiene quindi presentino il rischio più basso. Tale gruppo viene utilizzato come riferimento e in genere le stime di associazione vengono espresse sotto forma di rapporto delle stime di frequenza nei gruppi di esposti rispetto al gruppo dei non esposti.

Una misura largamente impiegata è il rapporto tra tassi, denominato anche *rate ratio* o, meno comunemente, rapporto di densità di incidenza (*incidence density ratio*) (Miettinen, 1975; Kleinbaum *et al.*, 1982). Sotto opportune condizioni il rapporto tra tassi può essere interpretato come uno stimatore di rischio relativo. Infatti, come mostrato in precedenza, nel caso di patologie rare con tassi costanti nel periodo di tempo considerato, il rischio approssima il prodotto del tasso per il tempo. Quindi, date due popolazioni N_0 e N_1 , di cui N_0 rappresenti la categoria di riferimento, R_0 e R_1 i rischi corrispettivi per l'incidenza di una patologia di interesse nel tempo Δt , e infine λ_0 e λ_1 i corrispondenti tassi di incidenza, si ha:

$$\frac{\lambda_1}{\lambda_0} \cong \frac{\frac{R_1}{\Delta t}}{\frac{R_0}{\Delta t}} = \frac{R_1}{R_0}$$

Un'altra misura fondamentale è il rapporto tra rischi (RR), denominato *risk ratio* o rischio relativo (*relative risk*), che può essere stimato direttamente dal rapporto tra due rischi cumulativi.

Infine, l'Odds Ratio (OR) viene ricavato dal rapporto tra due Odds, a loro volta ottenuti dal rischio di contrarre una determinata patologia in due distinte popolazioni (tipicamente esposti e non-esposti); esso dovrebbe essere indicato più propriamente come ROR (*Risk Odds Ratio*), per distinguerlo da altri rapporti di Odds. Tuttavia, in genere, nella letteratura scientifica tale distinzione risulta implicita. Per patologie rare l'OR rappresenta una stima di rischio relativo. Infatti, se Odd_1 e Odd_2 sono gli odd corrispondenti ai rischi R_1 e R_2 per due popolazioni a confronto e se la patologia è rara, allora le quantità $1-R_1$ e $1-R_2$ saranno entrambi approssimabili circa a 1, per cui:

$$Odd_1 \cong \frac{R_1}{1 - R_1}$$

$$Odd_2 \cong \frac{R_2}{1 - R_2}$$

$$OR \cong \frac{\frac{R_1}{1 - R_1}}{\frac{R_2}{1 - R_2}} \cong \frac{R_1}{R_2}$$

dove il simbolo \equiv significa “uguale per definizione” ed il simbolo \approx significa “uguale circa”.

Tale proprietà dell’OR può sembrare poco utile, in quanto il rischio relativo può essere direttamente calcolato dal rapporto tra i rischi utilizzati per stimare i corrispondenti Odds (ovvero dal rapporto tra R_1 e R_2). Tuttavia, nello studio caso-controllo non si ha la possibilità di misurare direttamente il rischio negli esposti e nei non esposti, ma si deve procedere misurando l’esposizione nelle due categorie di malattia (tipicamente malati e sani, denominati rispettivamente “casi” e “controlli”). L’OR così ottenuto, che è un Odds Ratio di esposizione (*Exposure Odds Ratio*), può essere utilizzato per stimare il corrispondente OR di rischio, che a sua volta, come appena dimostrato, è uno stimatore di rischio relativo.

La suddetta proprietà dell’OR di esposizione può essere ricavata analiticamente a partire dal teorema di Bayes, come illustrato nell’Appendice 2.

La relazione tra OR e *rate ratio* può essere ricavata in modo piuttosto semplice. Infatti, in una popolazione stabile (dove cioè la popolazione N non varia sensibilmente nel tempo di osservazione Δt), il rapporto tra due tassi di incidenza λ_1 e λ_0 è pari a:

$$\frac{\lambda_1}{\lambda_0} = \frac{\frac{C_1}{N_1 \Delta t}}{\frac{C_0}{N_0 \Delta t}} = \frac{\frac{C_1}{C_0}}{\frac{N_1}{N_0}}$$

Il rapporto tra C_1 e C_0 rappresenta l’Odd di esposizione per i casi, mentre il rapporto tra N_1 e N_0 è l’Odd di esposizione per i non casi⁵, per cui:

$$\frac{\lambda_1}{\lambda_0} = ROR$$

Riepilogando, l’OR di esposizione è stimatore dell’OR di rischio sotto opportune condizioni (ovvero che i casi e i non-casi, detti in questo contesto “controlli”, originino dalla stessa popolazione o, almeno, da popolazioni che siano state sottoposte allo stesso periodo di osservazione). L’OR di rischio è anche equivalente ad un rapporto tra tassi.

L’OR rappresenta quindi uno stimatore di rischio relativo che è non distorto per eventi rari. Non distorto (in lingua inglese “*unbiased*”) significa che il suo valore stimato da un campione casuale della popolazione generale coincide mediamente

⁵ In genere l’Odd di esposizione nei non casi (denominati controlli nello studio caso-controllo) non è stimato dall’intera popolazione, ma da un suo campione selezionato con precisi criteri, come si vedrà meglio in seguito.

(cioè per ripetuti campionamenti) con il valore vero della popolazione stessa. Il fattore di distorsione (*bias*) può essere ricavato immediatamente dalla relazione che lega l'OR di rischio al *risk ratio*:

$$OR \equiv \frac{\frac{R_1}{1-R_1}}{\frac{R_0}{1-R_0}} = \frac{R_1}{R_0} \frac{1-R_0}{1-R_1} = RR \left(\frac{1-R_0}{1-R_1} \right)$$

quindi il fattore di distorsione è pari al rapporto tra il complemento a 1 dei due rischi, inserito nella parentesi tonda della formula sopra riportata. Quando entrambi i rischi sono piccoli (ovvero in presenza di una patologia rara), come sopra illustrato, tale rapporto tende a 1 e OR tende a RR. Si noti che tale rapporto tende comunque a 1, anche per patologie non rare, quando i due rischi sono simili. Nel caso si confrontino due popolazioni che differiscono per un fattore di esposizione, l'OR sarà quindi pari a RR e al valore atteso di 1 sotto l'ipotesi nulla di assenza dell'effetto dell'esposizione stessa, sia per patologie rare che per patologie a elevata incidenza. Qualora il rischio R_0 per la popolazione non esposta fosse inferiore a quello della popolazione esposta R_1 , si osserverebbe un RR superiore a 1 e l'OR risulterebbe distorto per eccesso (in quanto il numeratore $1-R_0$ risulterebbe maggiore del denominatore $1-R_1$). Al contrario, se l'esposizione fosse protettiva, ovvero in presenza di $R_0 > R_1$, l'OR sarebbe inferiore a 1, e risulterebbe stimatore distorto per difetto di RR. Quindi, in sintesi, l'OR tende ad enfatizzare sistematicamente l'effetto dell'esposizione, in particolare per patologie non rare.

Un esempio numerico permette di verificare tale proprietà: si supponga di avere studiato due popolazioni per un determinato intervallo di tempo Δt . La probabilità di ammalarsi per gli esposti in tale intervallo di tempo era pari al 3 per mille (ovvero: $R_1 = 0.003$), mentre la corrispondente probabilità nella popolazione dei non esposti era pari all'1 per mille ($R_0 = 0.001$). La stima di rischio relativo sarà quindi ottenibile immediatamente dal rapporto tra i rischi:

$$\hat{RR} = \frac{R_1}{R_0} = \frac{0.003}{0.001} = 3$$

per cui si stima che l'esposizione abbia triplicato il rischio di ammalarsi. Il corrispondente OR sarà:

$$\hat{OR} = \frac{\frac{R_1}{1-R_1}}{\frac{R_0}{1-R_0}} = \frac{\frac{0.003}{1-0.003}}{\frac{0.001}{1-0.001}} = 3.006$$

L'RR e l'OR presentano quindi valori molto simili tra loro. Si supponga ora di studiare sulla stessa popolazione l'incidenza di un'altra patologia meno rara, i cui rischi siano rispettivamente, del 15 e del 5 per cento (ovvero $R_1 = 0.15$ e $R_0 = 0.05$). Il rischio relativo sarà ancora pari a 3:

$$\hat{RR} = \frac{R_1}{R_0} = \frac{0.15}{0.05} = 3$$

L'OR invece risulterà sensibilmente più elevato:

$$\hat{OR} = \frac{\frac{R_1}{1-R_1}}{\frac{R_0}{1-R_0}} = \frac{\frac{0.15}{1-0.15}}{\frac{0.05}{1-0.05}} = 3.35$$

Introduzione allo Studio Caso-Controllo

La caratteristica fondamentale dello studio caso-controllo è la misura dell'esposizione pregressa effettuata separatamente in due gruppi diversi di soggetti, denominati appunto casi e controlli. Per tale motivo esso è noto anche come studio retrospettivo e viene talora denominato studio *case-referent* o, più raramente, *case-compeer* (Cole, 1979; Breslow and Day, 1980). Differisce dallo studio trasversale in quanto seleziona i casi e i non casi da popolazioni differenti (Kleinbaum *et al.*, 1982).

Storicamente, il primo studio caso-controllo fu probabilmente l'indagine di Lane-Clayton (1926) sull'associazione tra tumore maligno della mammella e fertilità. Tale metodologia di studio venne utilizzata molto sporadicamente nei due decenni successivi, finché nel 1951 Cornfield dimostrò che il rapporto tra le frequenze di esposizione nei casi e nei controlli poteva essere impiegato per stimare il rischio relativo di malattia (nell' Appendice 2 è riportata la dimostrazione formale di tale proprietà applicata all'OR).

Ulteriore impulso venne poi fornito dal contributo teorico di Mantel e Haenszel (1959), in cui vennero descritti metodi per la valutazione e per il controllo del confondimento sia per quanto riguarda la pianificazione dello studio che dal punto di vista della metodologia statistica.

A partire dagli anni '60, lo studio caso-controllo si è diffuso enormemente, sino a diventare oggi, probabilmente, lo studio epidemiologico osservazionale più utilizzato.

Tra i vantaggi principali, che ne giustificano l'ampio utilizzo, vi è l'applicabilità diretta sia all'essere umano che agli animali domestici, dato che si tratta di uno studio osservazionale in cui, come già accennato in precedenza, l'esposizione

non deve essere somministrata dallo sperimentatore. Rispetto agli studi di coorte, permette di valutare l'effetto di diverse esposizioni e quindi l'eventuale presenza di interazione tra di esse. Permette inoltre una più agevole raccolta di informazioni su diversi possibili confondenti e, infine, in molte situazioni risulta più potente, poiché è in grado di includere un numero di casi molto superiore, specialmente se si tratta di studiare patologie cronico-degenerative (cioè rare), che in uno studio di coorte insorgono solamente in numero limitato e dopo un prolungato periodo di osservazione.

Uno studio caso-controllo basato su un'intera popolazione (cioè che campiona casi e controlli da una popolazione generale) permette anche di ottenere una stima del tasso di incidenza, che è più difficilmente ottenibile in un disegno di coorte, in cui alcune categorie si riducono o scompaiono nel corso dell'indagine (ad esempio, per invecchiamento della coorte, con conseguente scomparsa dei soggetti giovani, oppure per perdita di informazioni per migrazione dei soggetti).

Un ulteriore vantaggio dello studio caso-controllo consiste nella rapidità con cui esso può essere effettuato, ossia da poche settimane, se si utilizzano dati preesistenti (eventualità però piuttosto rara), a pochi anni. Tale rapidità si affianca a bassi costi derivanti o dalla disponibilità di dati preesistenti, oppure, più comunemente, dalla fonte anamnesticca dell'informazione sull'esposizione pregressa e sui possibili confondenti, rilevati in genere tramite un questionario. Tuttavia alcuni studi caso-controllo possono essere piuttosto costosi se al questionario si aggiungono informazioni da analisi genetiche o da campioni biologici.

Lo studio caso-controllo risulta particolarmente adatto per indagare patologie rare, in cui si possono selezionare tutti i casi incidenti (nuovi casi) in un determinato territorio per l'intero periodo di osservazione (utilizzando, ad esempio, segnalazioni ospedaliere, da centri coinvolti nello studio, schede di dimissione, oppure dati di registro di patologia). In ogni caso, si applica molto bene anche allo studio di patologie frequenti, in cui però, per ragioni di costi, può essere conveniente selezionare un campione dei casi, anziché la loro totalità. Infine, contrariamente agli studi descrittivi, lo studio caso-controllo ha valore probante riguardo all'associazione causale tra esposizione e rischio di insorgenza della patologia in analisi; tale vantaggio, nell'ambito degli studi osservazionali, è condiviso solamente dallo studio di coorte.

A fronte degli evidenti vantaggi, lo studio caso-controllo presenta però, specialmente rispetto allo studio di coorte, alcuni limiti che devono essere attentamente presi in considerazione in fase sia di pianificazione dello studio che di interpretazione dei risultati. In particolare, lo studio caso-controllo non è adatto a valutare l'effetto di esposizioni rare, ma tale limite è presente solo se la prevalenza degli esposti è bassa nel sottogruppo dei casi. Infatti, se l'esposizione presenta un elevato rischio attribuibile (ovvero è responsabile di un'ampia proporzione di casi, come ad esempio l'esposizione ad amianto quale fattore di rischio per il mesotelioma della pleura), lo studio caso-controllo risulta comunque efficace nel rilevare la sua associazione con la patologia.

In genere lo studio caso-controllo permette solo di ottenere stime relative della frequenza di patologia, anche se, come sottolineato poco sopra, quando è basato su popolazione può consentire la stima di tassi di incidenza. Ciò risulta

particolarmente agevole se i casi sono estratti da un archivio di patologia (quale un Registro Tumori).

Il limite principale dello studio caso-controllo, probabilmente, risiede nella sua suscettibilità a diversi fattori di distorsione (*bias*). Il primo *bias* da considerare è il *bias* di selezione, che può originare dalla scelta inadeguata dei casi o, più comunemente, dei controlli. Infatti se questi ultimi non sono rappresentativi della popolazione generale, l'associazione eventualmente osservata nel campione potrebbe essere diversa da quella presente nella popolazione.

Un altro possibile *bias* è rappresentato dalla differenza di informazione ottenuta dai casi rispetto ai controlli. In particolare, i casi spesso tendono ad attribuire ad avvenute esposizioni l'insorgenza della loro patologia, per cui possono ricordare meglio o più intensamente l'avvenuta esposizione (*recall bias*, chiamato talvolta *anamnestic bias* o *ruminant bias*).

Il *bias* di selezione non è caratteristico solo degli studi caso-controllo, ma può essere presente, in modo particolarmente insidioso, anche in altre indagini epidemiologiche sia sperimentali che osservazionali. Il *recall bias* è invece tipico degli studi caso-controllo, in quanto deriva dalla raccolta anamnesticca dell'esposizione.

I *bias* da confondimento, per le variabili più importanti, possono essere controllati mediante appaiamento (*matching*). L'effetto delle variabili che non sono oggetto di appaiamento può essere controllato mediante opportuno modellamento statistico.

Pianificazione dello studio

Le due aree principali in cui possono insorgere difficoltà nella pianificazione e conduzione di uno studio caso-controllo sono:

- a) la selezione dei soggetti in studio (specialmente la scelta del gruppo di controllo)
- b) il trattamento del confondimento e dell'interazione.

Per quanto riguarda la selezione dei casi, questi possono essere incidenti, prevalenti, o deceduti (in tal caso viene intervistato in genere il parente più prossimo). Gli studi con casi incidenti sono preferibili, in quanto l'intervista ai parenti dei deceduti può fornire informazioni meno accurate e complete, mentre i casi prevalenti possono essere selezionati per qualche caratteristica legata alla loro maggiore capacità di sopravvivenza. Ad ogni modo, dal momento che si utilizza l'informazione a priori (cioè rilevata prima dell'inizio dello studio) sulla condizione di malattia, in genere i casi vengono campionati da una popolazione diversa rispetto a quella dei controlli, e ciò costituisce una differenza fondamentale rispetto allo studio trasversale, che campiona dalla stessa popolazione sia i malati (quasi sempre casi prevalenti) che i non malati.

La definizione dei casi dovrebbe essere il più possibile omogenea, a meno

che non si conducano studi estremamente ampi (ad esempio studi multicentrici), che concettualmente possono essere considerati come un insieme di studi caso-controllo condotti simultaneamente (tipicamente con un solo gruppo di controllo per ogni gruppo di casi). Un esempio è costituito dallo studio di popolazione condotto su 11 aree italiane (Comune di Torino, Province di Firenze, Forlì, Imperia, Latina, Novara, Ragusa, Siena, Varese, Vercelli e Verona), tra l'associazione ad esposizioni professionali e l'insorgenza di neoplasie dell'apparato emolinfopietico (Costantini et al., 1992). Tali neoplasie costituiscono un gruppo di patologie eterogeneo, per le quali però esiste almeno una indicazione di una possibile associazione con fattori di rischio nell'ambiente di lavoro. Per assicurare un'elevata omogeneità dei casi, talvolta viene operata una restrizione ad un determinato sottogruppo di età, sesso o di altri fattori.

Per evitare bias di selezione, sia nei casi che nei controlli, occorre evitare la selezione degli individui sulla base di caratteristiche associate all'esposizione. Ad esempio, se l'esposizione causa sintomi o patologie diverse dalla malattia in esame, può però favorire una maggiore frequenza di visite mediche e controlli, che a loro volta possono portare ad un'anticipazione della diagnosi, con la rilevazione di patologie asintomatiche o silenti; ciò produce una sovrastima dell'associazione. Tale bias risulta però maggiormente insidioso negli studi di follow-up, in cui tende a causare una sovrastima dei tassi osservati.

Le fonti di informazione sui casi incidenti sono rappresentate da: registri di patologia, dipartimenti di patologia, schede di ricovero o dimissione ospedaliera e, più raramente, registri personali di medici di base. Nel caso degli animali, la fonte più importante è rappresentata dal registro tumori animali coordinato dal CE.R.O.V.E.C. (Centro di referenza nazionale per l'oncologia veterinaria e comparata) di Torino.

La selezione del tipo di controlli e il calcolo della loro numerosità rappresentano punti cruciali nella pianificazione di uno studio caso-controllo. La scelta di controlli ospedalieri viene utilizzata in quanto permette un notevole risparmio di costi. L'intervistatore può infatti rilevare informazioni sia sui casi incidenti che sui controlli agevolmente e in tempi molto rapidi; inoltre i soggetti ospedalizzati tendono ad essere maggiormente collaborativi.

Se la serie dei casi è basata su popolazione (cioè rappresenta un campione casuale dei casi entro una popolazione oppure, come avviene frequentemente per patologie rare, costituisce la totalità dei casi incidenti nel periodo di conduzione dello studio), allora la scelta dei controlli dovrebbe essere effettuata su un campione della popolazione, scelto in modo randomizzato. Alternativamente, al fine di assicurare un miglior controllo del confondimento, i controlli possono essere selezionati mediante appaiamento (*matching*). Tuttavia, la scelta dei controlli di popolazione deve tenere conto dell'aumento del costo dello studio e del rischio di ottenere un elevato numero di non rispondenti.

L'appaiamento consiste nel campionare, per ogni caso, uno o più controlli simili per la distribuzione di alcune variabili di confondimento (tipicamente: sesso, età e, negli studi multicentrici, area di provenienza). In genere viene stabilito un opportuno rapporto di campionamento (ad esempio 2 controlli per ogni caso, 4 controlli per ogni caso, ecc.). La decisione di effettuare o meno l'appaiamento e la scelta delle variabili in base alle quali appaiare risulta cruciale nella pianificazione di

uno studio caso-controllo.

L'appaiamento permette di ottenere sia maggiore potenza che un semplice ma efficace controllo del confondimento. Tuttavia la scelta di appaiare per una variabile che non è realmente associata al rischio della malattia può causare una perdita di efficienza dello studio (fenomeno noto come *overmatching*). Inoltre la scelta di un elevato numero di variabili per il *matching* può aumentare, anziché diminuire, i costi, in quanto risulta necessario campionare i controlli in un numero molto elevato di strati (e quindi occorre campionarne un numero maggiore). Se invece i casi originano da una restrizione, anche i controlli dovranno essere selezionati applicando la stessa procedura.

Per similitudine con gli studi sperimentali, in genere si ritiene che i controlli dovrebbero differire dai casi solamente per l'assenza della patologia in esame. Tuttavia, come evidenziato da Cole (1979), tale assioma è di solito inapplicabile agli studi caso-controllo. Inoltre, come sopra accennato, appaiando per variabili che non sono veri e propri confondenti, si può ottenere l'effetto di "*overmatching*", ovvero di aumento della variabilità delle stime. Infine, vi è il rischio di selezionare controlli con caratteristiche che non sono associate alla patologia bensì all'esposizione, generando così una sottostima del rischio.

Inferenza statistica nello studio caso-controllo

Nel caso più semplice di una sola variabile di esposizione e in assenza di confondenti, il risultato di uno studio caso controllo può essere riassunto in una tabella 2x2, nel modo seguente:

Tabella 1. Risultato di uno studio caso-controllo con fattore di esposizione a due livelli (presente o assente).

	Esposizione		Totale
	Presente	Assente	
Casi	a	b	a+b
Controlli	c	d	c+d
	a+c	b+d	a+b+c+d

Lo stimatore di associazione di gran lunga più comune nello studio caso-controllo, come accennato più volte, è l'Odds Ratio di esposizione che, come già detto, rappresenta una stima dell'OR di rischio e, come tale, è stimatore di rischio relativo. Esso può essere ricavato semplicemente dalla seguente formula:

$$OR = \frac{a \cdot d}{b \cdot c}$$

Infatti, l'odd di esposizione nei casi può essere stimato dal rapporto a/b , mentre l'odd di esposizione nei controlli da c/d . Dal rapporto tra tali quantità si ricava immediatamente la semplice formula sopra riportata.

Sotto l'ipotesi di non-effetto dell'esposizione, il valore atteso dell'OR è pari a 1, mentre sotto l'ipotesi di un incremento di rischio per gli esposti tale valore tenderà ad essere più elevato. Al contrario, nel caso in cui l'esposizione fosse protettiva, l'OR sarà compreso tra 0 e 1 e il fattore di rischio dovrebbe essere denominato, più coerentemente, "fattore protettivo".

E' necessario valutare se un OR che si discosti da 1 sia prodotto da un'associazione tra il fattore in studio e il rischio di patologia, oppure sia imputabile alla fluttuazione casuale dovuta alla variabilità del campione. Per tale valutazione (che costituisce l'oggetto dell'inferenza statistica) si può procedere testando l'associazione tra esposizione e patologia mediante un test χ^2 di Pearson sulla tabella di contingenza corrispondente (v. esempio in Tabella 1). Tale metodo verrà ripreso poco più avanti. Alternativamente, si può impiegare una stima della varianza dell'OR (oppure la sua radice quadrata, che prende il nome di errore standard). I metodi più utilizzati per ricavare la varianza dell'OR sono quello di Woolf (1955) e quello di Miettinen (1976), che producono risultati in genere sovrapponibili, come mostrato nell'esempio numerico in Appendice 3.

Metodo di Woolf

Assumendo per il logaritmo dell'OR una distribuzione (almeno approssimativamente) log-normale e assumendo l'indipendenza dei conteggi nelle celle a , b , c e d (Tabella 1), la varianza del logaritmo dell'OR sarà:

$$Var [\log(OR)] = VAR \left[\log \left(\frac{a \cdot d}{b \cdot c} \right) \right] = VAR [\log(a)] + VAR [\log(d)] + VAR [\log(b)] + VAR [\log(c)]$$

La varianza del logaritmo di un conteggio è uguale (circa) all'inverso del conteggio stesso (Woolf, 1955), per cui la varianza del logaritmo dell'OR potrà essere ottenuta dalla seguente formula:

$$Var [\log(OR)] \cong \frac{1}{a} + \frac{1}{b} + \frac{1}{c} + \frac{1}{d}$$

La significatività statistica ad un determinato livello di α (in genere, per convenzione, 0.05) potrà essere ottenuta da un test basato sulla distribuzione normale standardizzata:

$$z = \frac{\log(OR)}{ES[\log(OR)]} = \frac{\log\left(\frac{ad}{bc}\right)}{\sqrt{\frac{1}{a} + \frac{1}{b} + \frac{1}{c} + \frac{1}{d}}}$$

Se tale valore supera in valore assoluto il valore critico di 1.96, si può affermare che vi è un'associazione statisticamente significativa tra esposizione e insorgenza di malattia.

In modo del tutto equivalente si possono ricavare i corrispondenti intervalli di confidenza per il logaritmo dell'OR che, opportunamente esponenziati, producono gli intervalli di confidenza dell'OR:

$$95\%CI(OR) = OR \cdot e^{\mp 1.96 \cdot \sqrt{\frac{1}{a} + \frac{1}{b} + \frac{1}{c} + \frac{1}{d}}}$$

Metodo di Miettinen

Nel 1976 Olli Miettinen ha proposto un metodo anch'esso basato sull'approssimazione del logaritmo dell'OR alla distribuzione normale. Sotto tale ipotesi, data la relazione che lega la distribuzione normale standard alla distribuzione χ^2 , il rapporto tra tale parametro al quadrato e la sua varianza dovrebbe essere distribuito come un χ^2 con 1 grado di libertà:

$$\chi_1^2 = \frac{\log(OR)}{Var[\log(OR)]}$$

La presenza di associazione tra esposizione e rischio di malattia, come sopra accennato, può essere testata impiegando il test χ^2 di Pearson per la tabella di contingenza riportata in Tabella 1, ovvero:

$$\chi_1^2 = \sum \frac{(Oss - Att)^2}{Att}$$

dove gli eventi osservati "Oss" per ogni cella nella Tabella 1 sono stati indicati con le lettere a , b , c e d , rispettivamente, mentre i valori attesi corrispondenti ("Att") vengono calcolati con il metodo di Pearson, moltiplicando per ogni cella il totale di riga per quello di colonna e dividendo il risultato per il totale generale. Ad esempio, per la cella con a eventi osservati in Tabella 1, i corrispondenti eventi attesi saranno:

$$\frac{(a+b)(a+c)}{a+b+c+d}$$

Utilizzando tale stima del valore di χ^2 nella formula sopra indicata si può ottenere una stima della varianza del logaritmo dell'OR:

$$\text{Var} [\log(OR)] = \frac{\log(OR)}{\chi_1^2}$$

da cui si possono ricavare gli intervalli di confidenza dell'OR nel modo seguente:

$$95\%CI(OR) = OR \cdot e^{\mp 1.96 \sqrt{\frac{[\log(OR)]^2}{\chi_1^2}}}$$

Calcolo dell'OR per dati appaiati

I metodi di stima dell'OR e dei suoi limiti di confidenza ora accennati sono validi soltanto in assenza di fattori di confondimento. Tale situazione, in realtà, risulta piuttosto rara, per cui sono stati sviluppati diversi procedimenti di controllo del confondimento, che costituiranno l'argomento di un prossimo articolo. In questa sede si accennerà brevemente soltanto al metodo di stima dell'OR per dati appaiati.

Tabella 2. Risultato di uno studio caso-controllo per dati appaiati (con rapporto di campionamento 1:1) e fattore di esposizione a due livelli (presente o assente).

	Controlli Esposti	Controlli Non-Esposti	Totale
Casi Esposti	a	b	a+b
Casi Non-esposti	c	d	c+d
Totale	a+c	b+d	a+b+c+d

La stima dell'OR in questo caso viene effettuata considerando solamente le coppie di caso e controllo con risultato discordante, ovvero ignorando i casi esposti appaiati ai controlli esposti e i casi non esposti appaiati ai controlli non esposti. La stima dell'OR sarà, semplicemente:

$$OR = \frac{b}{c}$$

La significatività statistica di tale stimatore potrà essere ricavata dal test χ^2

per tabelle di contingenza 2x2 con dati appaiati (test di McNemar), che ha la seguente semplice formulazione:

$$\chi_{MN1}^2 = \frac{(b - c)^2}{b + c}$$

I limiti di confidenza dell'OR ad un determinato livello di significatività $1-\alpha$ (usualmente, per convenzione, 0,95, ossia 95%) possono essere ottenuti mediante l'approssimazione proposta da Pearson e Hartley (1966). Si procede calcolando i limiti di confidenza per la proporzione π delle coppie con i soli controlli esposti, che è legata all'OR dalla seguente relazione:

$$OR = \frac{\pi}{1 - \pi}$$

La formula per il calcolo di tali limiti è stata ricavata dalla relazione che lega la funzione binomiale alla funzione F di Fisher:

$$\pi_I = \frac{b}{b + (c + 1) \cdot F_{\alpha/2, (2c+2), 2b}} ; \pi_S = \frac{(b + 1) \cdot F_{\alpha/2, (2b+2), 2c}}{c + (b + 1) \cdot F_{\alpha/2, (2b+2), 2c}}$$

dove π_L e π_S rappresentano, rispettivamente, i limiti di confidenza inferiore e superiore di π . Ottenuti π_I e π_S , i limiti di confidenza dell'OR (rispettivamente, OR_I e OR_S) saranno quindi:

$$OR_I = \frac{\pi_I}{1 - \pi_I} ; OR_S = \frac{\pi_S}{1 - \pi_S}$$

In Appendice 4 è riportato un esempio con dati simulati. Viene inoltre mostrato come ignorare il *matching* in fase di analisi possa indurre una stima distorta dell'OR, che può inficiare la validità dello studio.

APPENDICE 1

Relazione tra rischio e tasso

La relazione che lega il rischio al tasso può essere ricavata nel modo seguente. Si selezioni una popolazione di individui non affetti dalla patologia in studio, seguiti

tra il tempo 0 e il tempo T. Si supponga che gli individui vengano esclusi dal periodo di osservazione a causa dell'insorgenza della patologia in esame (ignorando quindi, in una prima grossolana approssimazione, la possibilità che un individuo esca dallo studio senza aver contratto la patologia in esame⁶, per la conclusione dello studio stesso, per decesso dovuto a cause diverse da tale patologia, oppure perché "perso di vista", ad esempio per migrazione).

Per ogni periodo temporale t, è possibile definire una funzione di rischio, come probabilità che il tempo T sia inferiore a t (ovvero che il soggetto esca dallo studio per l'insorgenza della patologia):

$$R(t) = P(T < t) = \int_0^t f(x) dx$$

dove f(x) rappresenta la funzione di densità di probabilità della funzione di distribuzione dei tempi T, ovvero (per definizione) la derivata prima della funzione di rischio R(t).

È possibile definire una nuova funzione, denominata "funzione di sopravvivenza", che rappresenta la probabilità che un soggetto sopravviva (senza malattia) oltre un determinato tempo t. Ciò implica che il periodo di osservazione T sia superiore a t, per cui la funzione di sopravvivenza S(t) risulterà complementare alla funzione F(t):

$$S(t) = P(T \geq t) = 1 - R(t)$$

Si definisce come funzione di *hazard*, $\lambda(t)$, la probabilità che un soggetto della popolazione in studio muoia al tempo t; si tratta quindi di una probabilità condizionale ad essere sopravvissuto fino a al tempo t. Più precisamente, la funzione di *hazard* rappresenta il tasso di incidenza (o di morte) istantaneo per un individuo sopravvissuto fino al tempo t:

$$\lambda(t) = \lim_{\delta t \rightarrow 0} \left\{ \frac{P(t \leq T < t + \delta t | T \geq t)}{\delta t} \right\}$$

⁶ Fenomeno che negli studi di sopravvivenza viene denominato "censoring".

Applicando il teorema di Bayes si ottiene la relazione che lega la funzione *hazard* alla funzione di sopravvivenza:

$$\lambda(t) = \lim_{\delta t \rightarrow 0} \left\{ \frac{P(t \leq T < t + \delta t | T \geq t)}{\delta t} \right\} = \lim_{\delta t \rightarrow 0} \left\{ \frac{P(T \geq t | t \leq T < t + \delta t) \cdot P(t \leq T \leq t + \delta t)}{P(T \geq t) \delta t} \right\}$$



$$\lambda(t) = \lim_{\delta t \rightarrow 0} \left\{ \frac{P(t \leq T < t + \delta t)}{\delta t} \right\} \cdot \frac{1}{S(t)} = \frac{f(t)}{S(t)}$$

Ricordando che quest'ultima è stata definita come il complementare a 1 della funzione di rischio $R(t)$, si ottiene:

$$\lambda(t) = \frac{dR(t)}{dt} \frac{1}{S(t)} = \frac{d[1 - S(t)]}{dt} \frac{1}{S(t)}$$



$$-\lambda(t) dt = \frac{dS(t)}{S(t)}$$

da cui integrando entrambi i membri, si ottiene:

$$R(t) = 1 - e^{-\int \lambda(t) dt}$$

Nel caso in cui il tasso risulti (almeno approssimativamente) costante nel periodo di tempo tra 0 e t, e indicando il corrispondente rischio dell'evento come $R_{0,t}$, tale formula si semplifica nella seguente:

$$R_{0,t} = 1 - e^{-\lambda t}$$

Infine, per patologie rare considerate in un breve intervallo di tempo, il prodotto λt risulta piuttosto vicino al valore 0 (ad esempio, il tasso di incidenza della maggior parte delle neoplasie è dell'ordine di 10^{-5} o 10^{-6} per anno); applicando alla

formula sopra riportata la seguente proprietà dei limiti:

$$\lim_{x \rightarrow 0} \frac{1 - e^{-x}}{x} = 1$$

tale relazione tra rischio e tasso si semplifica nella seguente:

$$R_{0,t} \cong \lambda t$$

in cui il simbolo \cong significa “uguale circa”.

APPENDICE 2

L'OR di esposizione è equivalente all'OR di rischio.

Mentre negli studi di coorte è possibile, per quanto in genere poco utile, calcolare direttamente una stima di OR di rischio (ROR), negli studi caso-controllo la proporzione dei casi viene scelta a priori, per cui non è possibile ottenere un odd di rischio e quindi una stima di ROR. Tuttavia è possibile ottenere un Odd di esposizione sia per i casi che per i controlli e, di conseguenza rapportarli per ottenere una stima di OR di esposizione (EOR). Tale stimatore tenderà ad essere tanto più elevato quanto più elevata è la probabilità per i casi di essere stati esposti rispetto ai controlli, per cui risulta intuitivo che debba essere associato al rischio relativo (e quindi al ROR) di malattia nelle popolazioni degli esposti e dei non esposti, che si assume abbiano dato origine ai casi ed ai controlli inclusi nello studio. Meno intuitiva è invece l'esatta corrispondenza tra OR di esposizione e OR di rischio, che ne giustifica l'ampio utilizzo come principale stimatore di RR nell'ambito degli studi caso-controllo. Tale dimostrazione si effettua a partire dal teorema di Bayes.

Si considerino due gruppi di soggetti, esposti e non-esposti, osservati per periodo di tempo Δt . L'OR di rischio (ROR) sarà, per definizione:

$$ROR = \frac{\frac{P(M^+|E^+)}{1 - P(M^+|E^+)}}{\frac{P(M^+|E^-)}{1 - P(M^+|E^-)}} = \frac{\frac{P(M^+|E^+)}{P(M^-|E^+)}}{\frac{P(M^+|E^-)}{P(M^-|E^-)}}$$

dove $P(M^+|E^+)$ rappresenta la probabilità di ammalarsi per un esposto (ovvero il rischio per un esposto) e $P(M^-|E^+)$ la probabilità di non ammalarsi per lo

stesso soggetto, per cui vale la seguente relazione: $1 - P(M^+|E^+) = P(M^-|E^+)$.

Analogamente $P(M^+|E^-)$ rappresenta la probabilità di ammalarsi per un soggetto non-esposto e $P(M^-|E^-)$ rappresenta la probabilità di non ammalarsi per un non esposto, per cui: $1 - P(M^+|E^-) = P(M^-|E^-)$.

Applicando il teorema di Bayes, separatamente ai due rischi (negli esposti e nei non esposti), si ottiene:

$$P(M^+|E^+) = \frac{P(E^+|M^+)P(M^+)}{P(E^+)} = \frac{P(E^+|M^+)P(M^+)}{P(E^+|M^+)P(M^+) + P(E^+|M^-)P(M^-)}$$

$$P(M^+|E^-) = \frac{P(E^-|M^+)P(M^+)}{P(E^-)} = \frac{P(E^-|M^+)P(M^+)}{P(E^-|M^+)P(M^+) + P(E^-|M^-)P(M^-)}$$

L'OR corrispondente sarà quindi:

$$ROR = \frac{\frac{P(M^+|E^+)}{1 - P(M^+|E^+)}}{\frac{P(M^+|E^-)}{1 - P(M^+|E^-)}} = \frac{1 - \frac{P(E^+|M^+)P(M^+)}{P(E^+|M^+)P(M^+) + P(E^+|M^-)P(M^-)}}{1 - \frac{P(E^-|M^+)P(M^+)}{P(E^-|M^+)P(M^+) + P(E^-|M^-)P(M^-)}} =$$

$$= \frac{\frac{P(E^+|M^+)P(M^+)}{P(E^+|M^+)P(M^+) + P(E^+|M^-)P(M^-)} - P(E^+|M^+)P(M^+)}{\frac{P(E^-|M^+)P(M^+)}{P(E^-|M^+)P(M^+) + P(E^-|M^-)P(M^-)} - P(E^-|M^+)P(M^+)}$$

$$= \frac{\frac{P(E^+|M^+)}{P(E^+|M^-)}}{\frac{1 - P(E^+|M^+)}{1 - P(E^+|M^-)}} = EOR$$

APPENDICE 3**Esempio di calcolo di un OR e dei suoi intervalli di confidenza**

Recentemente (Glickman et al., 2004) è stata studiata l'associazione tra contatto con vari tipi di erbicidi ed altre sostanze usate in agricoltura e rischio di carcinoma vescicale in cani di razza Scottish Terrier. Relativamente all'esposizione agli erbicidi, sono stati ottenuti i dati riassunti Tabella 1A.

Tabella 1A. Risultati di uno studio caso-controllo (Glickman et al., 2004)

	Esposizione		Totale
	Presente	Assente	
Casi	42	15	57
Controlli	41	68	109
	83	83	166

1) Stima dell'OR:

$$OR = \frac{42 \cdot 68}{15 \cdot 41} = 4.643$$

il cui logaritmo naturale vale 1.535

Si osserva quindi una stima di rischio di sviluppare la patologia di oltre 4 volte negli esposti rispetto ai non esposti.

2) Errore Standard del logaritmo dell'OR sec. Woolf:

$$ES[\log(OR)] = \sqrt{\frac{1}{42} + \frac{1}{15} + \frac{1}{41} + \frac{1}{68}} = 0.360$$

3) Limiti di confidenza al 95% dell'OR, sec. Woolf:

$$95\% CI(OR) = OR \cdot e^{\mp 1.96 ES[\log(OR)]} = 4.643 \cdot e^{\mp 1.96 \cdot 0.360} = [2.29; 9.40]$$

Il limite di confidenza inferiore eccede il valore atteso di 1, per cui si può affermare che l'associazione osservata tra il fattore di rischio e l'insorgenza della patologia risulta statisticamente significativa ($p < 0.05$).

4) Analisi mediante il metodo di Miettinen:

Test χ^2 di Pearson sulla tabella di contingenza 1A:

$$\chi_1^2 = \frac{\left(42 - \frac{57 \cdot 83}{166}\right)^2}{\frac{57 \cdot 83}{166}} + \frac{\left(15 - \frac{57 \cdot 83}{166}\right)^2}{\frac{57 \cdot 83}{166}} + \frac{\left(41 - \frac{109 \cdot 83}{166}\right)^2}{\frac{109 \cdot 83}{166}} + \frac{\left(68 - \frac{109 \cdot 83}{166}\right)^2}{\frac{109 \cdot 83}{166}} = 19.48$$

il valore eccede il valore critico di 3.84, per cui l'associazione osservata è statisticamente significativa ($p < 0.05$)⁷.

Calcolo dei limiti di confidenza al 95% dell'OR:

$$95\% \text{ CI}(OR) = OR \cdot e^{\mp 1.96 \sqrt{\frac{[\log(OR)]^2}{\chi^2}}} = e^{\mp 1.96 \cdot 0.348} = [2.35; 9.18]$$

Si noti che i limiti di confidenza ottenuti con i due metodi hanno prodotto risultati molto simili.

APPENDICE 4**Esempio di stima dell'OR per dati appaiati**

In uno studio caso-controllo si supponga di aver reclutato 175 casi di una determinata patologia, appaiati ad altrettanti controlli per sesso e classe d'età, e di aver ottenuto, mediante questionario, l'informazione sull'avvenuta esposizione. Si supponga inoltre che non vi siano altri fattori di confondimento, oltre quelli selezionati per il *matching*. I risultati sono riassunti nella tabella seguente:

	Controlli Esposti	Controlli Non-Esposti	Totale
Casi Esposti	78	19	97
Casi Non-Esposti	7	71	78
Totale	85	90	175

⁷ Si noti come l'approccio di Miettinen sia del tutto speculare a quello di Woolf, in quanto si procede prima al calcolo di una statistica test e poi alla stima della varianza del parametro.

La stima dell'OR per dati appaiati è semplicemente:

$$OR = \frac{19}{7} = 2.71$$

La sua significatività statistica può essere ottenuta mediante il test di McNemar:

$$\chi_{MN1}^2 = \frac{(19-7)^2}{19+7} = 5.54$$

che eccede il valore critico 3.84, che corrisponde alla soglia convenzionale di significatività statistica ($\alpha = 0.05$)⁸.

La proporzione π di coppie con caso esposto e controllo non esposto è pari a 19 su 26, ovvero 0.731. Per calcolare i relativi limiti di confidenza al 95% con la formula di Pearson e Hartley, occorre conoscere i valori della funzione F di Fisher per $F_{0.025,16,38}$ e $F_{0.025,40,14}$, rispettivamente, che possono essere ricavati approssimativamente dalle tavole della distribuzione F oppure, se possibile, ottenuti esattamente da un software statistico, che dovrebbe fornire i seguenti valori: 2.174 e 2.674.

I limiti di confidenza al 95% per π e per l'OR saranno quindi:

$$\pi_l = \frac{b}{b + (c+1) \cdot F_{\alpha/2, (2c+2), 2b}} = \frac{19}{19 + (7+1) \cdot 2.174} = 0.522 \rightarrow OR_l = \frac{0.522}{1-0.522} = 1.1$$

$$\pi_s = \frac{(b+1) \cdot F_{\alpha/2, (2b+2), 2c}}{c + (b+1) \cdot F_{\alpha/2, (2b+2), 2c}} = \frac{(19+1) \cdot 2.674}{7 + (19+1) \cdot 2.674} = 0.884 \rightarrow OR_s = \frac{0.884}{1-0.884} = 7.6$$

Ignorando (erroneamente) il *matching*, si sarebbe invece ottenuta la seguente tabella di contingenza, che si può ricavare agevolmente utilizzando i totali di riga e di colonna della tabella sopra riportata.

	Esposizione		Totale
	Presente	Assente	
Casi	97	78	175
Controlli	85	90	175
	182	168	350

⁸ Il valore di p ottenuto mediante un software statistico è 0.019.

L'OR stimato su tale tabella sarebbe stato:

$$OR = \frac{97 \cdot 90}{78 \cdot 85} = 1.32$$

che risulta nettamente inferiore all'OR ottenuto tenendo conto dell'appaiamento.

I relativi limiti di confidenza, calcolati con il metodo di Woolf precedentemente illustrato, sarebbero stati i seguenti⁹:

$$95\%CI(OR) = OR \cdot e^{\mp 1.96 ES[\log(OR)]} = 1.32 \cdot e^{\mp 1.96 \cdot \sqrt{\frac{1}{97} + \frac{1}{78} + \frac{1}{85} + \frac{1}{90}}} = [0.86; 2.0]$$

per cui oltre ad una sottostima dell'effetto dell'esposizione, la perdita dell'informazione sull'appaiamento in fase di analisi ha anche comportato una perdita di significatività statistica dell'associazione rilevata.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Breslow N.E., and Day N.E. (1980). *Statistical Methods in Cancer Research – Volume 1 – The analysis of case-control studies*. IARC Scientific Publications N. 32, Lyon.
- 2) Cole P. (1979). The evolving case-control study. *J. Chron. Dis.*, 32: 15-27.
- 3) Cornfield J. (1951). A method for estimating comparative rate from clinical data. Applications to cancer of the lung, breast and cervix. *J. Natl. Cancer Inst.*, 11: 1269-75.
- 4) Costantini A.S., Crosignani P., Zanetti R., Vineis P. (1992). Incidence of non-Hodgkin's lymphomas in Italy. Working Group on the Epidemiology of Hematolymphopoietic Malignancies in Italy. *J. Natl. Cancer Inst.*, 84: 1277-1278.
- 5) Glickman L.T., Raghavan M., Knapp D.W., Bonney P.L., Dawson M.H. (2004). Herbicide exposure and the risk of transitional cell carcinoma of the urinary bladder in Scottish Terriers. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 224: 8, 1290-1297.
- 6) Kleinbaum D.G., Kupper L.L., Morgenstern H. (1982). *Epidemiologic research: principles and quantitative methods*. John Wiley & Sons, Inc., New York.
- 7) Lane-Clayton J.E. (1926). A further report on cancer of the breast with special reference to its associated antecedent conditions. Reports on Public Health and Medical Subjects no. 32, London: Ministry of Health.

⁹ Utilizzando il metodo di Miettinen con la stessa approssimazione decimale, si sarebbero ottenuti gli stessi valori.

- 8) Mantel, N., Haenszel, W. (1959). Statistical aspects of the analysis of data from retrospective studies of disease. *J Natl. Cancer Inst.*, 22: 719-748.
- 9) Miettinen O.S. (1976). Estimability and estimation in case-referent studies. *Am. J. Epidemiol.*, 103 (2), 226-235.
- 10) Pearson E.S., Hartley H.O. (1966). *Biometrika Tables for Statisticians*, Vol.I (3rd Edition), Cambridge, Cambridge University Press.
- 11) Thrusfield M. (1995). *Veterinary Epidemiology*. 2nd Ed., Blackwell Science, Oxford.
- 12) Woolf B (1955). On estimating the relationship between blood group and disease. *Ann. Human Genet.*, 19: 251-253.

RIASSUNTO

Gli studi epidemiologici volti a studiare i determinanti di malattia possono essere classificati in tre categorie (sperimentali, quasi-sperimentali ed osservazionali) in base alla possibilità del ricercatore di manipolare il fattore in studio. Gli studi osservazionali consistono in indagini in cui il fattore in studio (generalmente un presunto determinante) non viene manipolato. Essi possono essere distinti in studi descrittivi e studi analitici; questi ultimi assumono grande importanza nello studio delle cause di malattia in quanto, diversamente da altri tipi di studio, sono considerati probanti. Gli studi analitici possono essere a loro volta inquadrati in studi "di coorte" e studi "caso-controllo". Gli studi caso-controllo, che rappresentano l'oggetto della presente rassegna, sono utilissimi qualora si intenda studiare patologie a lungo periodo di latenza e risultano realizzabili anche in condizioni in cui la dimensione della popolazione a rischio non sia nota. Essi hanno anche il vantaggio di richiedere meno risorse rispetto ad altri tipi di studio, ma possono essere soggetti a distorsioni sistematiche (*bias*).

Dopo aver brevemente considerato alcune importanti misure di frequenza e di associazione utilizzabili negli studi epidemiologici, gli Autori illustrano le caratteristiche di tali tipi di studio, mettendone in evidenza i dettagli di pianificazione ed i processi di inferenza utilizzabili nell'interpretazione dei dati ottenuti. In particolare, viene trattato, anche con l'ausilio di esempi numerici, l'Odds Ratio (OR) di esposizione e si illustrano due metodi di stima della sua varianza: il metodo di Woolf ed il metodo di Miettinen. Infine, viene descritto il calcolo dell'OR per dati appaiati.

SUMMARY

Epidemiological studies, aimed at investigating risk factors for selected diseases, may be classified into three categories (experimental, quasi-experimental and observational studies), according to the power of the researcher to handle the factor under study. Observational studies are investigations in which the studied factor (in general, some exposure) is not manipulated. They may be classified in

descriptive and analytical. Differently from other studies, these latter are considered as probatory and therefore they play a central role in studying disease causes. Analytical studies, in their turn, may be arranged either in “cohort” or in “case-control” studies. Case-control studies, which represent the matter of this review, are very suitable to investigate diseases with a long latency, and they are feasible even when the size of the at risk population is unknown. Moreover, they have the advantage to require less resources than other type of epidemiological studies. However, they may be prone to some systematic errors (biases).

The Authors briefly review the main measures of frequency and association employed in epidemiological studies. Thereafter, they illustrate the characteristics of case-control studies, highlighting study design issues and illustrating some methods of statistical inference and the interpretation of the obtained results. For instance, the exposure Odds Ratio (OR) is described providing numerical examples, and two methods to estimate its variance are also described (i.e., Woolf and Miettinen methods, respectively). Finally, the method to estimate OR for matching case-control study is also illustrated.

PAROLE CHIAVE

Epidemiologia, studi osservazionali, studi analitici, studi caso controllo, Odds Ratio, appaiamento.

KEY WORDS

Epidemiology, observational studies, analytical studies, case-control studies, Odds Ratio, matching.

PROFILI, PREFERENZE ED ASPETTATIVE DEGLI STUDENTI DEL CORSO DI LAUREA IN SCIENZE E TECNICHE EQUINE DELL'UNIVERSITÀ DI PARMA

Antonio Lucio Catalano, Francesca Martuzzi, Stefano Filippini, Franca Vaccari Simonini

Premessa

Fino all'inizio del 20° secolo l'Italia era uno dei Paesi nei quali l'allevamento equino era maggiormente sviluppato e gestito con grande competenza. Alcune razze cavalline italiane erano conosciute ed esportate in tutta Europa, come il Cavallo Napoletano ed il Persano. Tale antica tradizione si è parzialmente perduta e l'allevamento del cavallo in Italia si è drasticamente ridotto come numero di soggetti allevati; nel contempo la competenza degli allevatori ed addetti al settore si è progressivamente impoverita. Attualmente, per quanto riguarda l'istruzione a livello universitario nell'ambito ippico, in alcuni Paesi europei esistono da tempo corsi di laurea incentrati sull'insegnamento delle scienze connesse all'allevamento e all'impiego sportivo del cavallo (Bruns, 1997; Holgersson *et al.*, 1997; Saastamoinen e Laine, 1997; Wallin *et al.*, 1997); in altri lo studio del cavallo costituisce un argomento nell'ambito di corsi di produzioni animali (Bodò, 1997; Caput, 1997; Habe, 1997; Hecker, 1997). Il problema dell'istruzione nel settore ippico è sentito in molti Paesi europei (Herlin, 1997). In Italia la formazione di addetti è tuttora affidata esclusivamente a sporadiche iniziative private (Martuzzi *et al.*, 2004), sebbene la necessità nel settore equino di persone competenti sia particolarmente sentita. Sulla base di tali considerazioni, presso la Facoltà di Medicina Veterinaria dell'Università di Parma è stato creato a partire dall'A.A. 2002/3 il corso di laurea triennale in Scienze e Tecniche Equine.

Allo scopo di conoscerne i profili, gli interessi prevalenti e le aspettative per un futuro impiego, agli studenti del corso è stato distribuito un questionario da compilare all'atto dell'iscrizione. Scopo del presente lavoro è di presentare i risultati emersi dall'elaborazione dei dati raccolti presso gli iscritti all'Anno Accademico 2004/5.

Materiali e metodi

Il questionario era composta di tre parti:

- 2 una parte "anagrafica";
- 3 una parte riguardante "competenze e preferenze";
- 4 una parte concernente "sbocchi professionali previsti o auspicati"

Parte anagrafica

Nella parte anagrafica venivano posti quesiti relativi al sesso, età (appartenenza ad una di sette classi di età, da meno di 20 anni a più di 50), provincia di provenienza, formazione scolastica precedente, eventuale attività lavorativa e sportiva, motivazioni nella scelta del corso.

Preferenze ed indirizzi

Nella parte relativa a “preferenze ed indirizzi” veniva chiesto di esprimere il grado di interesse secondo una scala da 1 a 4 (1= scarso; 2= medio; 3= discreto; 4= elevato), relativamente a:

- 2 quale tipo di allevamento: se indirizzato alla produzione di cavallo da sella sportivo, da diporto, da corsa o altro;
- 3 quale settore dell'allevamento: gestione, alimentazione e razionamento, miglioramento genetico ed etnologia, riproduzione, igiene, cura e ferratura, etologia e benessere, fisioterapia e chiroterapia.
- 4 Quale tipo di impiego del cavallo: addestramento, allenamento, attività agonistica e sportiva, equiturismo;
- 5 quale settore dell'impiego: sport equestri (salto ostacoli, completo, dressage, attacchi) corse (galoppo, trotto) altri impieghi (monta americana, sella lavoro, sella diporto, sella endurance, tiro leggero, tiro pesante, ippoterapia, produzione della carne, altro)

Sbocchi professionali previsti o auspicati

Nell'ultima parte della scheda si chiedevano informazioni sugli sbocchi professionali previsti o auspicati: allevatore, tecnico di allevamento, giudice di modello e andature, giudice di attitudine, preparatore di giovani cavalli e addestratore, esperto di ippoterapia, allenatore, cavaliere professionista, ausiliario ai veterinari, fisioterapista, gestore impianti ippici, istruttore qualificato o altro.

Risultati e discussione

Parte anagrafica

Sesso: gli iscritti ai 3 anni del corso sono 145; di essi 49 sono maschi e 69 femmine, ossia 34% e 66% rispettivamente; tali percentuali sono simili a quelle riscontrate per il corso di Medicina Veterinaria Specialistica: 35% e 65% rispettivamente. Sono state raccolte 75 schede; fra coloro che le hanno compilate il 26% è rappresentato da maschi ed il 74% da femmine (fig. n°1); si rileva pertanto da parte delle femmine una maggiore propensione alla collaborazione, risultando

la componente femminile di coloro che hanno risposto superiore in proporzione a quella delle iscritte.

Età: dalla ripartizione in base alle 7 classi di età (fig. n°2) risulta che la classe maggiormente rappresentata (54%) è quella dei neodiplomati di età inferiore ai 20 anni, seguita da quella degli studenti di 21-25 anni (25%); non risultano iscritti di età fra i 36-45 anni, mentre il 3% è dato da persone di età fra i 41 ed i 50 anni e un altro 3% è rappresentato da ultracinquantenni.

Residenza: essendo il corso l'unico del suo genere in Italia, esso richiama studenti anche da altre province: solo il 31% degli iscritti proviene dalla provincia di Parma (fig. n°3).

Tipo di scuola superiore e laurea: il 42% proviene da istituti tecnici, il 38% da licei ed il 20% da altre scuole; 5 risultano già laureati.

Lavoro: il 54% degli iscritti è costituito da studenti a tempo pieno, il restante 46% è rappresentato da studenti lavoratori. Il fatto che quasi la metà degli iscritti sia impegnata in attività di lavoro costituisce un problema notevole per l'organizzazione dell'attività didattica, in quanto il regolamento prevede obbligatorietà di frequenza per le ore di attività didattica pratica, le quali andrebbero concentrate in giorni della settimana o in periodi del semestre per agevolarne la frequenza da parte di tali studenti.

Preferenze ed indirizzi:

Tipo di allevamento: le preferenze degli studenti riguardo l'indirizzo dell'allevamento vanno al cavallo da sella per sport equestri, secondariamente al cavallo da sella per diporto ed al cavallo da corsa (fig. n°4).

Settore dell'allevamento: dalla fig. n°5 si evince come tutti gli aspetti dell'allevamento del cavallo affrontati nei corsi interessino notevolmente; l'aspetto relativo all'etologia e benessere suscita l'interesse maggiore.

Tipo di impiego del cavallo: fra le varie fasi degli impieghi del cavallo ed i diversi indirizzi l'interesse sembra ripartito abbastanza uniformemente fra addestramento, allenamento ed agonismo; interesse minore suscita l'equiturismo (fig. n°6).

Settore dell'impiego: nelle fig. n°7 e n°8 sono rappresentate le preferenze degli studenti nei confronti delle varie discipline in cui può essere impiegato il cavallo: fra quelle sportive si nota un netta prevalenza del salto ad ostacoli, seguito dal completo e dal galoppo. Fra gli altri impieghi, l'ippoterapia prevale nettamente, mentre la produzione di carne risulta all'ultimo posto.

Sbocchi professionali previsti o auspicati: la maggioranza degli studenti spera di trovare impiego nel settore del cavallo da sella per sport equestri, sia nel caso si voglia dedicare all'attività di giudice di attitudine (fig. n°10), a quella di allenatore (fig. n°11), oppure di gestore di impianti ippici (fig. n°12).

Nel complesso, le preferenze per il futuro sbocco professionale risultano inerenti il settore della fisioterapia; al secondo posto la figura di ausiliario del veterinario (fig. n°13), mentre all'ultimo posto quella di cavaliere professionista.

Conclusioni

La maggioranza degli iscritti a Scienze e Tecniche Equine e, di riflesso, di coloro che hanno risposto al questionario è costituita da donne; circa la metà degli interpellati è neodiplomata e circa la metà ha già un impiego. L'interesse prevalente è rivolto verso il soggetto da sella da salto ostacoli e di conseguenza nei riguardi dei vari aspetti dell'allevamento, addestramento ed impiego di questo tipo di cavallo.

Un certo interesse si rileva nei confronti dell'ippoterapia, ossia l'impiego del cavallo nella riabilitazione di persone con *handicap*, sia fisici che psichici; questo tipo di terapia, che si sta ampiamente diffondendo, richiederebbe in effetti che al terapeuta che opera in campo umano fosse affiancato un esperto nel comportamento e nella gestione del cavallo e sarebbe opportuno che una apposita normativa lo imponesse; questo potrebbe essere uno degli sbocchi professionali dei laureati in Scienze e Tecniche Equine.

Riguardo le aspettative di lavoro, è da rilevare come risulta poco considerato il settore dei cavalli da corsa, mentre sembrerebbe conveniente rivolgersi all'ambito dei cavalli trottatori, che in Italia è particolarmente sviluppato.

Dal punto di vista degli sbocchi nel mondo del lavoro, questo tipo di laurea ancora non forma una figura professionale ben definita; le aspettative nei confronti di un futuro impiego come fisioterapista in campo equino al momento non possono venire soddisfatte da questo tipo di laurea, in quanto la legislazione vigente non permette altre figure sanitarie nel settore animale oltre al medico veterinario.

Riassunto

Si illustrano i risultati di un'indagine conoscitiva svolta presso gli studenti del corso di laurea triennale in Scienze e Tecniche Equine, istituito presso la Facoltà di Medicina Veterinaria dell'Università di Parma. Sono state raccolte 75 schede; il 26% compilato da maschi ed il 74% da femmine. Il 54% è rappresentato da neodiplomati di età inferiore ai 20 anni. Il 69% degli iscritti proviene da fuori provincia. Il 54% è costituito da studenti a tempo pieno, il 46% da studenti lavoratori. L'interesse prevalente riguarda il cavallo da sella da salto ostacoli e tutti gli aspetti del suo allevamento, addestramento ed impiego. C'è interesse nei confronti dell'ippoterapia, mentre lo sbocco professionale auspicato in prevalenza riguarda la fisioterapia.

Summary

Results of a survey among the students of the triennial course of Equine Sciences and Technics, created by the Medicine Veterinary Faculty of the Parma University are reported. 75 forms were collected: 26% compiled by male students,

74% by female students. The newly school graduated students are 54%, younger than 20 years old. 69% of the students come from provinces other than Parma. 54% is constituted by full time students, the remaining are working students. Main interest is toward saddle horse for show jumping and every aspect of its breeding, training and employment. Interest is present toward hippotherapy as well, while main professional expectations are toward physiotherapy.

Parole chiave: Scienze equine, studenti

Key words: Equine sciences, students

Bibliografia

1. Bodò I. (1997) Higher education programmes for horse production in Hungary. Abstract book of the 48th Annual Meeting of the EAAP, pg. 370
2. Bruns E.W. (1997) Higher education for horse production at universities in Germany. Abstract book of the 48th Annual Meeting of the EAAP, pg. 367
3. Caput P. (1997) Higher education programmes for horse production in Croatia. Abstract book of the 48th Annual Meeting of the EAAP, pg. 370
4. Habe F. (1997) Higher education for horse production in Slovenia. Abstract book of the 48th Annual Meeting of the EAAP, pg. 369
5. Habe F. (1997) Riding academy of Slovenia and its programmes. Abstract book of the 48th Annual Meeting of the EAAP, pg. 371
6. Hecker V. (1997) Horse sport education programmes in Hungary. Abstract book of the 48th Annual Meeting of the EAAP, pg. 371
7. Herlin A. H., Swensson C. and Ventorp M. (1997) Theoretical horse courses for practical people - a meeting place between agriculture and the horse sector. Abstract book of the 48th Annual Meeting of the EAAP, pg. 368
8. Holgersson A. L., Philipsson J., Dalin G., Morgan K., Planck C. and Wengelin R. (1997) Diploma of higher education in horse management in Sweden. Abstract book of the 48th Annual Meeting of the EAAP, pg. 368
9. Martuzzi F., A. L. Catalano and S. Filippini (2004) Teaching Equine Sciences and Technics in Italy. Abstract book of the 55th Annual Meeting of the EAAP, pg. 317
10. Saastamoinen M.T. and Laine P. (1997) Education of horse professionals in Finland. Abstract book of the 48th Annual Meeting of the EAAP, pg. 369
11. Wallin L. E., Gerber E., Rundgren M. and Philipsson J. (1997) Equine courses at the Swedish University of Agricultural Sciences for students in the animal science programme for external students. Abstract book of the 48th Annual Meeting of the EAAP, pg. 367

Ripartizione in base al sesso

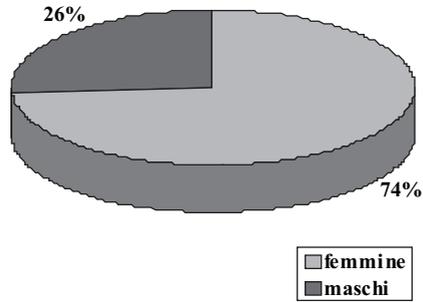


Fig. 1

Provenienza

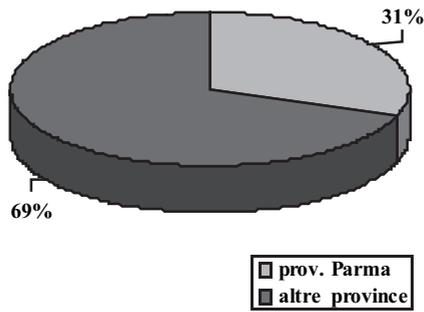


Fig. 2

Suddivisione per età

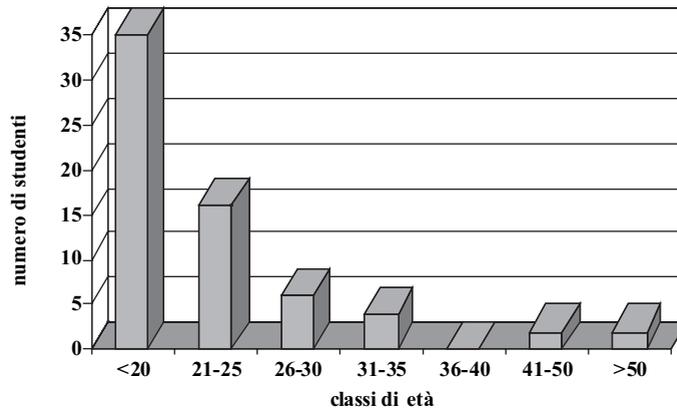


Fig. 3

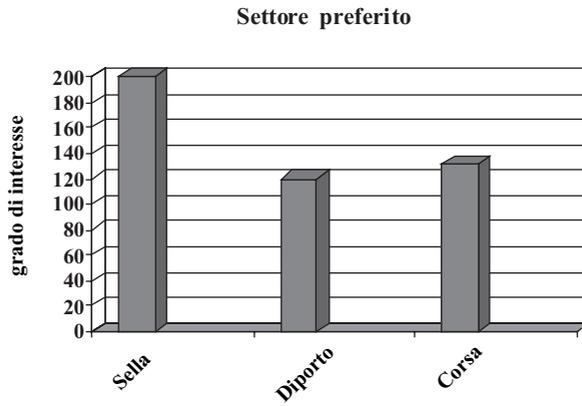


Fig. 4

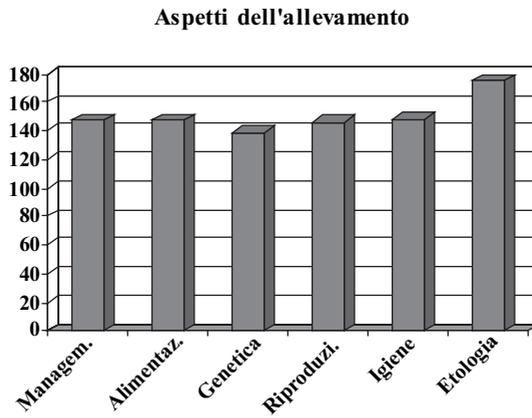


Fig. 5

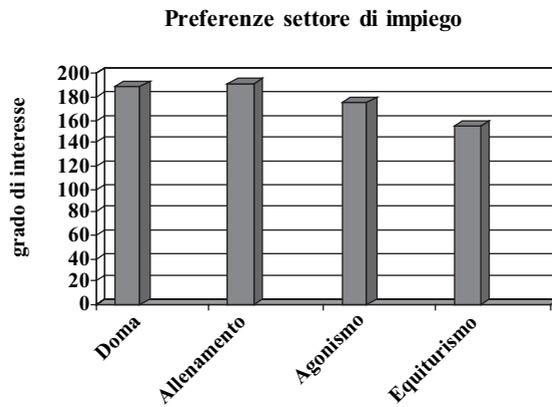


Fig. 6

Preferenze fra gli sport equestri

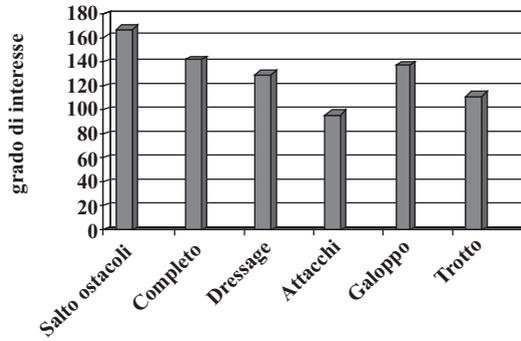


Fig. 7

Altri impieghi

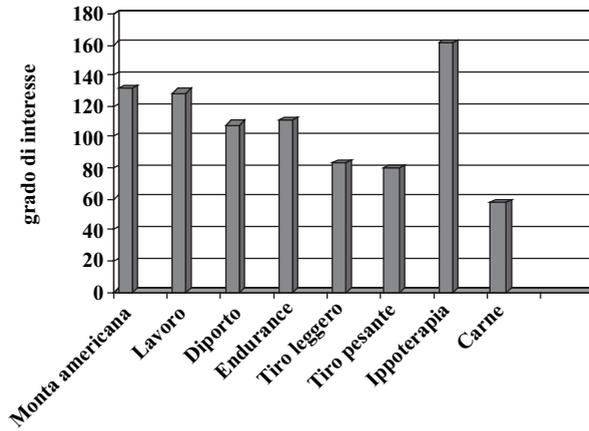


Fig. 8

Sbocchi professionali

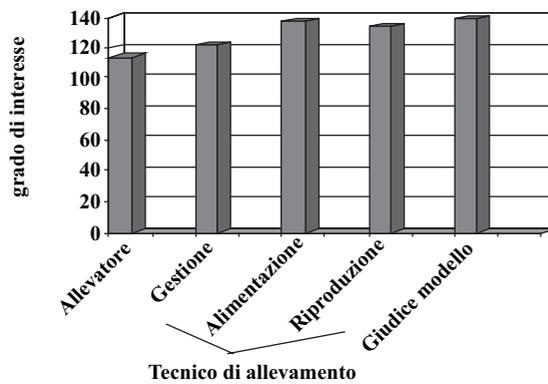


Fig. 9

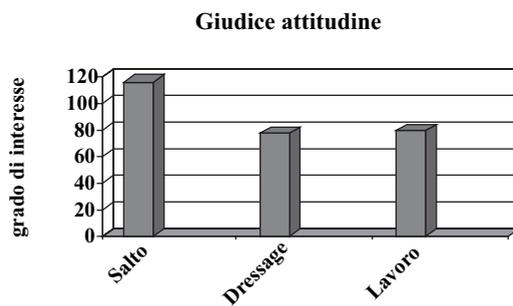


Fig. 10

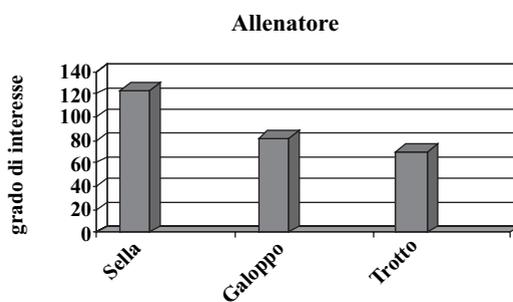


Fig. 11

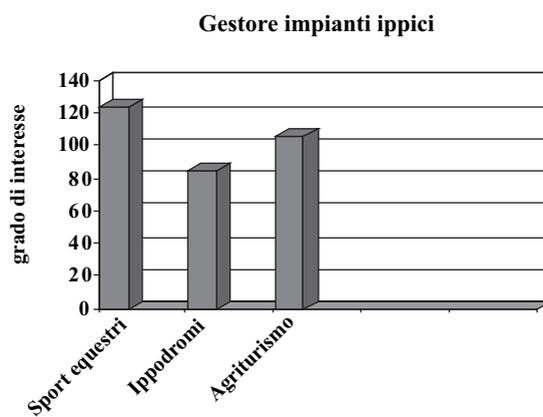


Fig. 12

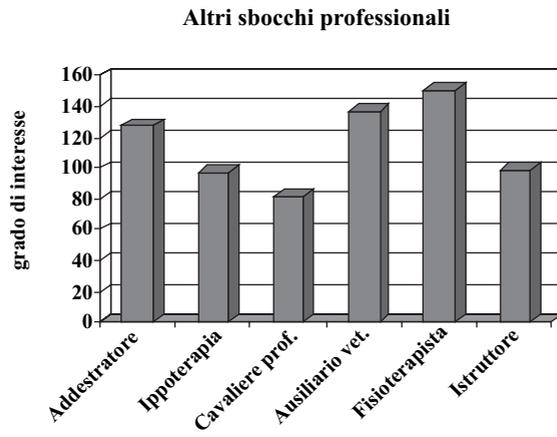


Fig. 13

ANOMALIE DI SVILUPPO DELL'APPARATO LOCOMOTORE NEL PULEDRO IN RELAZIONE ALLE TECNICHE D'ALLEVAMENTO

Filippini S., Catalano A. L., Martuzzi F.

Premessa

Negli ultimi anni le anomalie di sviluppo dell'apparato locomotore nel puledro sono divenute più frequenti arrecando forti danni all'allevamento equino. Il problema si riscontra soprattutto in razze molto selezionate per la competizione. Accanto alla forte selezione anche le tecniche d'allevamento e quindi il management giocano un ruolo fondamentale nell'espressione di tali anomalie. Il problema è stato ampiamente studiato ed esiste in merito una vasta bibliografia (Harris *et al*, 2004; Jeffcott, 1991; Jeffcott, 1997; Jeffcott, 2004; Jeffcott e Savage, 1996; Savage *et al.*, 1993; Wolter, 1996). Con il presente lavoro si intende fare una rassegna sintetica dei fattori che hanno evidenziato una certa influenza sull'instaurarsi delle anomalie di sviluppo dell'apparato locomotore nel puledro.

Il termine anomalie di sviluppo prende in considerazione un complesso di disturbi generali che si ripercuotono sulla formazione e sull'accrescimento dell'apparato locomotore.

Gli Inglesi definiscono tale complesso con l'acronimo DOD (Developmental Orthopedic Disease) raggruppando in esso patologie come:

1. Ingrossamento della lamina d'accrescimento delle ossa (epifisite).
2. Deformità angolari dell'arto.
3. OCD ossia osteocondrite dissecante (danno della cartilagine articolare con presenza o di cisti ossea o con un frammento osseo o di cartilagine articolare).
4. Deformità flessorie dell'arto.
5. Sindrome di Wobbler.

Le cause di tali malattie sono multifattoriali; i fattori predisponenti però sembrano essere simili.

Nella popolazione equina la percentuale di soggetti colpiti da questo tipo d'anomalie si aggira tra il 10% e il 25% e non sempre le lesioni sono di facile rilievo (Lewis, 1996).

Anomalie di sviluppo del puledro

Secondo Jeffcott (2004), le anomalie di sviluppo dell'apparato locomotore nel puledro sembrano avere comune origine.

Alla base di tutto vi è un'alterazione della cartilagine d'accrescimento, più o meno reversibile, e della cartilagine articolare (Jeffcott, 1991). I fattori che portano a

questo sono molteplici e in forte relazione tra loro.

Le principali lesioni che si possono riscontrare nei puledri in accrescimento fino all'età di tre anni sono: epifisite, deformità angolari degli arti, alterazione della cartilagine articolare (OCD), deformità flessorie dei tendini, sindrome di Wobbler (Jeffcott, 2004).

Epifisite

Con epifisite s'intende l'allargamento della lamina d'accrescimento dovuta ad un'anormale ossificazione endocondrale della cartilagine metafisale. La mancata ossificazione della cartilagine d'accrescimento porta ad un ispessimento della stessa causando un visibile ingrossamento dei dischi d'accrescimento (Lewis, 1996). Questa condizione predispone a microfratture dell'osso metafisale, riscontrante più frequentemente in puledri con rapido accrescimento, quando il peso del corpo supera la capacità portante della struttura metafisale (Jeffcott, 2004). Le strutture anatomiche maggiormente soggette a tale anomalia sono: porzione distale del radio soprattutto tra i 12 e 18 mesi d'età, regione distale del metacarpo con maggior frequenza tra i 5 e 9 mesi d'età, porzione distale della tibia e vertebre cervicali (Lewis, 1996). Come conseguenza di ciò i puledri presentano, secondo la regione anatomica colpita, deviazioni degli assi degli arti con conseguente irregolare distribuzione del peso corporeo sulle strutture sottostanti. La zoppia in puledri soggetti ad epifisite può non essere o essere presente e può presentarsi con grado variabile (Jeffcott, 1997).

La situazione si può risolvere spontaneamente con la crescita e con la chiusura delle cartilagini d'accrescimento, a meno che intervengano fattori aggravanti quali cisti ossee.

Deformità angolari degli arti

Le deformità angolari degli arti del puledro si presentano come conseguenza a diversi fattori quali: lassità articolare, difetti d'ossificazione endocondrale, asincronia di crescita longitudinale delle ossa, lussazioni traumatiche, fratture delle ossa carpali, malposizione del feto in utero, improprio pareggio del piede, eccessiva attività fisica e zoppie dell'arto controlaterale (Adams, 1990).

L'ispessimento della cartilagine d'accrescimento, dovuta ad alterazione del processo d'ossificazione endocondrale, ostacola la normale nutrizione della cartilagine stessa determinando così un rallentamento della crescita ossea; se tale fenomeno si manifesta in modo irregolare a causa dei fattori sopra citati, un lato del segmento osseo cresce più lentamente dell'altro portando quindi a deformità angolari dell'arto (Jeffcott, 1991).

Nelle forme congenite il problema si presenta già alla nascita o nei primissimi giorni di vita del puledro; nelle forme acquisite invece la deformità angolare dell'arto si può presentare da qualche settimana a qualche mese d'età (Adams, 1990).

Clinicamente il puledro colpito presenta una deviazione mediale o laterale

dell'arto rispetto all'asse normale essendo, rispettivamente, valgo o varo dal punto di vista dell'appiombamento. Le possibilità di recupero dipendono dal grado di variazione angolare e dalla precocità d'intervento (Lewis, 1996).

Alterazione della cartilagine articolare e OCD

Questo tipo d'alterazione accade più frequentemente a livello delle articolazioni del garretto, del ginocchio, del nodello e del carpo; meno frequentemente si può presentare anche nell'articolazione scapolo-omerale come cisti ossea (Jeffcott, 1997).

L'ispessimento della zona ipertrofica della cartilagine articolare, in seguito ad alterazione della differenziazione e maturazione dei condrociti, porta ad un'adeguata diffusione dei nutrienti attraverso la cartilagine determinando una degenerazione degli strati basali (Weeren e Brama, 2001). In seguito a stress fisici, tale cartilagine si frattura o si fessura causando un'effusione articolare, dolore e, in alcuni casi, avulsione del frammento cartilagineo con conseguente formazione di un topo (chip) articolare. Il puledro può presentare lieve zoppia che però aumenta sotto esercizio fisico e in seguito a test di flessione (Lewis, 1996).

Il frammento articolare può erodere la cartilagine articolare opposta provocando osteoartrosi oppure, più difficilmente, incistarsi nella capsula articolare senza provocare altri danni (Jeffcott, 1991).

L'alterazione della cartilagine articolare del ginocchio e del garretto si presenta in puledri d'età compresa tra i 6 mesi e 2 anni d'età mentre per quanto riguarda l'articolazione scapolo-omerale le lesioni si manifestano tra i 12 e i 18 mesi d'età (Lewis, 1996).

Contratture flessorie dei tendini

Le contratture flessorie dei tendini possono essere d'origine congenita o acquisita (Adams, 1990).

Non necessariamente i tendini sono contratti, quello che si nota invece è una riduzione della lunghezza effettiva dell'unità muscolo-tendinea che porta appunto ad una deformità flessoria (Lewis, 1996).

In concomitanza a malformazioni ossee, le deformità saranno permanenti e non trattabili (Adams, 1990).

Deformità flessorie congenite dell'arto

Le deformità flessorie congenite solitamente non sono permanenti e si risolvono tanto più facilmente quanto prima s'interviene (Lewis, 1996). Le cause di tale deformazione sono state attribuite ad un'anomala posizione del puledro in utero, a una mutazione di un gene dominante nello stallone, a cause infettive quali influenza

equina ed ingestione di Astragalo in cavalle gravide (Adams, 1990). Tali deformità si presentano già alla nascita o dopo pochi giorni dal parto.

Deformità flessorie acquisite dell'arto

Le deformità flessorie acquisite si presentano entro pochi mesi di vita del puledro e possono interessare entrambi gli arti. Esistono due tipi principali: quelle di primo tipo che interessano il tendine flessore profondo del dito con contrazione dell'articolazione interfalangea distale; quelle di secondo tipo interessano il tendine flessore superficiale, con conseguente contrazione dell'articolazione del nodello nell'arto anteriore (Lewis, 1996).

Nel primo tipo il puledro presenta i talloni rialzati e nei casi gravi la parete dello zoccolo è oltre la verticale con conseguente arrembatura dei nodelli. I soggetti colpiti da questo tipo di deformità hanno meno di sei mesi d'età (Adams, 1990).

Nel secondo tipo invece l'arrembatura interessa l'intero arto poiché si ha flessione del nodello, deviazione craniale della pastoia e dell'articolazione metacarpo-falangea. In casi estremi il puledro in stazione può appoggiare con la faccia dorsale del nodello. L'età in cui avviene questo secondo tipo di deformazione è tra 4 e 10 mesi d'età (Adams, 1990).

Sindrome di Wobbler

L'ispessimento dei dischi d'accrescimento vertebrali, dovuto ad un'alterazione dell'ossificazione della cartilagine d'accrescimento, porta ad un restringimento del canale vertebrale con conseguente compressione del midollo spinale. Tale situazione avviene nei giovani cavalli più frequentemente in prossimità delle articolazioni tra C2-C3, C3-C4 e C4-C5 (Jeffcott, 2004). Il danno che ne deriva a livello di midollo spinale è definito come Sindrome di Wobbler. La sindrome di Wobbler perciò rappresenta il risultato di qualsiasi fattore che provochi un danno a carico del midollo spinale.

Attraverso uno studio universitario si è visto che su 383 puledri, con meno di quattro anni d'età, ben 91 presentavano incoordinazione nelle andature, postura a base ampia, tendenza al decubito, spasticità e tutti presentavano un ispessimento dei dischi d'accrescimento vertebrali (Lewis, 1996).

Secondo il momento in cui avviene la compressione del midollo spinale, la Sindrome di Wobbler è suddivisa in tre tipi (Lewis, 1996):

- compressione statica in posizione flessa (Tipo 1), i sintomi possono comparire in ogni momento dalla nascita ai quattro anni d'età.
- compressione solo durante la flessione del collo (Tipo 2), i sintomi compaiono nei puledri durante la fase d'allattamento e svezzamento.
- la compressione non aumenta con la flessione del collo (Tipo 3).

Cause d'anomalie di sviluppo dell'apparato locomotore nel puledro

Le principali cause che portano ad un anormale sviluppo dell'apparato locomotore nel puledro sono state attribuite ai seguenti fattori (Jeffcott, 1997):

1. Rapida crescita.
2. Traumi a carico dei dischi d'accrescimento e delle cartilagini articolari.
3. Squilibri minerali.
4. Predisposizione genetica.

Rapido accrescimento

In molti studi condotti su puledri PSI (Purosangue Inglese) e trottatori, si è visto come l'elevato tasso di crescita giochi un ruolo importante nella manifestazione di malattie di sviluppo ortopedico (Ellis e Tilburg 2002). Tale fattore si è presentato anche in studi condotti su altre specie animali come cane, suino e bovino.

Il rapido accrescimento negli animali è influenzato da fattori genetici, eccessi energetici e crescita compensatoria dopo un primo periodo di crescita lenta (Lewis, 1996).

Velocità di crescita troppo elevate, riscontrate soprattutto in razze da competizione, portano ad alterazioni della fisiologia d'accrescimento. Questo si è visto attraverso uno studio condotto su puledri PSI in svezzamento, dove soggetti con IPG (incremento ponderale giornaliero) di 1,05 kg erano più soggetti ad anomalie di sviluppo dell'apparato locomotore rispetto ai puledri con IPG di 0,67 kg (Harris *et al.* 2004).

Diete troppo energetiche e con eccesso di proteina digeribile portano ad elevati IPG. Nei puledri in accrescimento questo fattore è d'estrema importanza perché l'apparato scheletrico ed in particolare le articolazioni devono sostenere un carico in veloce aumento (Ott e Asquith, 1994). Si è visto che con diete contenenti il 130% dei fabbisogni energetici e proteici rispetto a quelli stabiliti dal NRC (National Research Council) considerati pari a 100%, che già sembrerebbero leggermente sovrastimati (Martin-Rosset, 2000), le lesioni osteocondrali e la displasia epifisale hanno un'incidenza maggiore. Questa relazione sembra dovuta ad una diminuzione dei livelli di tiroxina nel sangue in seguito ad un pasto ricco in carboidrati. La tiroxina è un ormone che interviene nel processo di maturazione dei condrociti e nella sintesi di proteoglicani e collagene, perciò bassi livelli di tale ormone potrebbero intervenire sul normale processo di formazione della cartilagine articolare e d'accrescimento (Jeffcott, 1991).

L'eccesso proteico gioca un ruolo fondamentale nello sviluppo d'anomalie di crescita nel puledro, giacché si è visto che alti livelli proteici nella dieta portano ad un aumento degli amminoacidi solforati, i quali vanno a sovraccaricare il sistema tampone presente a livello renale. Questo comporta: un minor riassorbimento renale dei minerali, soprattutto del Ca^{2+} che quindi è perso con le urine e un relativo eccesso di fosforo (Jeffcott e Savage, 1996).

Tutti questi processi possono intervenire sullo sviluppo d'anomalie

d'accrescimento nel puledro, anche se servono ulteriori studi per approfondire le conoscenze e chiarire alcuni punti (Jeffcott, 1991).

Traumi a carico dei dischi d'accrescimento e delle cartilagini articolari

Nei puledri la principale causa di trauma a livello dei dischi d'accrescimento e della cartilagine articolare è l'eccessivo esercizio. I soggetti più a rischio appartengono a razze selezionate per la competizione come il PSI, trottatore e Quarter Horse in quanto i puledri, già in giovane età, subiscono forti stress fisici legati appunto all'esercizio (Adams, 1990). Attraverso uno studio, effettuato nel 1994 da Bruin e Creemers (Harris *et al.*, 2004) su cavalli a sangue caldo, si è visto come un eccessivo esercizio e un eccessivo apporto energetico della dieta aumenta l'incidenza d'anomalie di sviluppo dell'apparato locomotore. In quest'esperimento erano previsti quattro gruppi di puledri trattati in quattro modi diversi ossia:

1. Con elevati apporti energetici e intenso esercizio (HE/HE).
2. Con elevati apporti energetici e leggero esercizio (HE/LE).
3. Con bassi apporti energetici e intenso esercizio (LE/HE).
4. Con bassi apporti energetici e leggero esercizio (LE/LE).

Da questo studio emerse che i puledri trattati rispettivamente con elevati apporti energetici e con scarso esercizio e con bassi apporti energetici ma con elevato sforzo fisico, presentano un'incidenza significativamente più alta, rispetto agli altri due gruppi, nei confronti delle anomalie di sviluppo scheletrico in particolare verso l'osteocondrosi (Harris *et al.*, 2004). L'incidenza maggiore di osteocondrosi in questi animali si è manifestata nel gruppo allevato con elevati apporti energetici e scarso esercizio, seguito in ordine decrescente dai gruppi (LE/HE), (LE/LE) e (HE/HE) (Jeffcott, 1991). Questa situazione si potrebbe spiegare dal fatto che diete troppo ricche in carboidrati possono influire negativamente sulla maturazione della matrice cartilaginea, sia a livello articolare, che a livello di fisi d'accrescimento. Il concomitante eccessivo esercizio e l'elevato tasso d'accrescimento vanno a sovraccaricare questa cartilagine non ben composta, provocandone la fessurazione o addirittura la rottura (Weeren e Brama, 2001). Nello stesso tempo però si è visto come un adeguato esercizio fisico e un'alimentazione non troppo spinta possono migliorare lo sviluppo scheletrico del puledro. Tuttavia la relazione tra eccessivo sforzo fisico e sovralimentazione richiede però ulteriori studi.

Squilibri minerali

Gli squilibri minerali maggiormente influenzanti le anomalie di sviluppo scheletrico sono quelli tra calcio e fosforo e tra zinco e rame (Hintz, 1996). Il calcio e il fosforo sono molto importanti per il normale processo d'ossificazione; una carenza

di tali macroelementi comporta un ispessimento delle cartilagini, una diminuzione della densità e dell'accrescimento osseo (Jordan *et al.*, 1975). La carenza di tali elementi non sempre è dovuta a diete povere in tali minerali ma anche ad un anomalo assorbimento degli stessi a livello intestinale (Breedveld *et al.*, 1988). Questo si presenta in particolar modo quando uno di questi minerali è in eccesso rispetto all'altro nella dieta. Per esempio, un eccesso di calcio nella razione può portare ad un minor assorbimento intestinale di fosforo, la cui digeribilità è già diminuita dalla sua prevalente forma fitica nei cereali. Un eccessivo apporto continuato di calcio con la dieta è responsabile dell'ipercalcemia, la quale induce maggiore ritenzione ossea del Ca (Jeffcott e Savage, 1996). Questo porta ad un minor turnover fisiologico del Ca dalla struttura ossea. La conseguenza di tutto ciò è un maggiore ispessimento dell'osso il quale è più soggetto a fenomeni d'osteopetrosi, osteosclerosi e osteopatia ipertrofica (Miraglia *et al.*, 1988). L'eccesso di calcio inoltre blocca l'assorbimento di altri oligoelementi come Zn, Cu e I (Jordan *et al.*, 1975). A questo punto si può capire come il rischio d'ipotiroidismo dovuto ad una dieta troppo energetica e ad uno scorretto rapporto tra minerali, può influire in modo marcato sullo sviluppo di determinate anomalie d'accrescimento.

Cu e Zn sono elementi indispensabili per la formazione del collagene poiché intervengono nel processo di formazione dell'idrossilisina e dell'idrossiprolina. Attraverso alcuni studi, si è visto che carenza di Cu (1,7 ppm), dovuto per esempio ad eccessi di Zn, porta a lesioni osteocondrali. Questo perché il rame interviene anche nei processi di neovascolarizzazione della cartilagine che portano poi alla normale ossificazione endocondrale. La situazione opposta, ossia un eccesso di Cu, riduce la disponibilità di selenio, agendo negativamente sulla funzionalità tiroidea e quindi sull'osteogenesi (Wolter, 1996). Di fronte a ciò, ci si rende conto come errori alimentari e d'esercizio siano i principali fattori predisponenti le anomalie di sviluppo scheletrico per i puledri.

Predisposizione genetica

Tra i possibili fattori provocanti anomalie di sviluppo scheletrico nei puledri, si annoverano anche la predisposizione genetica e l'ereditarietà. Studi effettuati in Scandinavia e negli Stati Uniti (Lewis, 1996) su puledri appartenenti a razze diverse, hanno mostrato una correlazione tra l'incidenza di osteocondrosi nella progenie e determinati stalloni. In seguito a questo si è visto che il coefficiente d'ereditabilità di tale patologia è tra 0,24 e 0,27 (Jeffcott, 1997).

La predisposizione genetica può intervenire sia direttamente che indirettamente sul problema influenzando la velocità di crescita dei puledri. Da studi effettuati su puledri maremmani si è notata anche un'influenza statisticamente significativa dei fattori genetici su alcuni parametri metabolici quali concentrazione sierica di rame e di ceruloplasmina, anch'esse possibili cause d'anomalie di sviluppo (Nannarone *et al.*, 2003). Nuovi studi però devono essere fatti per confermare in modo più approfondito il ruolo dell'effetto genetico nel determinismo di certe patologie.

Conclusioni

Le anomalie di sviluppo muscolo-scheletrico hanno, come si è visto, un'origine multifattoriale. Molti studi sono stati fatti per capire come tali fattori possono agire nel manifestare queste patologie e si è visto che non è l'azione di un singolo fattore a scatenare queste anomalie di sviluppo, ma è l'innescarsi di una serie di relazioni tra fattori a portare la patologia clinica. Oggigiorno il mercato del cavallo chiede soggetti sempre più prestanti in tempi brevi e questo non fa altro che incrementare l'incidenza d'anomalie di sviluppo muscolo-scheletrico. Il miglioramento delle tecniche d'allevamento attraverso il rispetto dei normali ritmi di crescita dei puledri e garantendo un regolare esercizio fisico, soprattutto nei primi mesi di vita, costituiscono il mezzo più sicuro per metter sotto controllo l'incidenza di queste patologie. Tuttavia il problema rimane e richiede ulteriori studi e ricerche per la sua corretta definizione.

Parole chiave: puledro, sviluppo, anomalie, allevamento.

Summary – The muscle-skeletal development anomalies have a complicated aetiopathogenesis principally related to some factors like growth, nutrition and management. The most frequent development anomalies are phytitis, angular limb deformities, osteochondrosis, flexural deformities and Wobbler syndrome. Many factors can determine the expression of these situations and affected anatomic sites are different. The incidence of these anomalies is included between 10% and 25% as indicated in numerous studies. Aim this paper is to give a brief overview about factors that can influence the expression of these anomalies.

Riassunto - Le anomalie di sviluppo muscolo-scheletrico hanno una complessa eziopatogenesi principalmente legata ad alcuni fattori quali crescita, nutrizione e management.

Le più frequenti anomalie di sviluppo sono rappresentate dall'epifisite, deformità angolari, osteocondrosi, deformità flessorie dell'arto e sindrome di Wobbler. Esistono molti fattori che possono scatenare il manifestarsi di queste situazioni e le sedi anatomiche colpite sono varie. L'incidenza di tali anomalie è compresa tra il 10% e il 25% come indicato da numerosi studi. Scopo di questo lavoro è di fornire una breve visione sui fattori che possono influenzare il manifestarsi di queste anomalie.

Bibliografia

- ADAMS O. R. (1990). Malattie di articolazioni, tendini, legamenti e strutture annesse in “ La zoppicatura nei cavalli”. edizione italiana a cura di Aurelio Mattini, sbm Noceto (Pr).
- BREEDVELD L.MS., JACKSON S. G.; BAKER J.P. (1988). The determination of a relationship between the copper, zinc and selenium levels in mares and those in their foals. *Equine veterinary science* pag. 378-382.
- ELLIS A.D and TILBURG G. M. (2002). Growth rates in DUTCH WARMBLOOD horses in relation to osteochondrosis. *Book of Abstract of the 53 rd annual meeting of the European association for animal production*. Cairo, Egypt 1-4 September 2002 pag. 264 (per esteso).
- HARRIS P., STANIAR W. ELLIS A. D. (2004). Effect of exercise and diet on the incidence of DOD 2nd European workshop on equine nutrition. Dijon, France, January 15, 16 and 17 2004 pag. 265 – 283.
- HINTZ H. F. (1996). Mineral requirements of growing horses. *Pferdeheilkunde* (12) (1996) 3 (Mai- Juni) pag. 303-306.
- JEFFCOTT L. B. (1991). Osteochondrosis in the horse—searching for the key to pathogenesis. *Equine vet. J.* (1991) 23 (5): pag. 331-338.
- JEFFCOTT L. B. and SAVAGE C. J. (1996). Nutrition and the developmental of osteochondrosis. *Pferdeheilkunde* 12 (1996) 3 (Mai – Juni) pag. 338-342.
- JEFFCOTT L. B. (1997). Osteochondrosis in horses. *Equine practice* 43: pag. 64-71.
- JEFFCOTT LEO (2004). Developmental diseases affecting growing horses. 2nd European workshop on equine nutrition. Dijon, France, January 15, 16 and 17 2004 pag. 231–245.
- JORDAN R. M., MYERS V.S., BRADFORD Y. and SPURRELL F.A. (1975). Effect of calcium end phosphorus levels on growth, reproduction and bone development of ponies. *Journal of animal science* vol. 40, no.1 pag. 78-85.
- LEWIS LON D. (1996). Malattie ortopediche dello sviluppo nei cavalli in “Alimentazione e allevamento del cavallo.” Edizione italiana a cura del Prof. Franco Valfrè, EMSI Roma.
- MARTIN ROSSET W. (2000). Feeding standars for energy end protein for horses in France. *Advances in equine nutrition. Proceedings for the 2000 equine nutrition conference for feed manufacturers.*
- MIRAGLIA N., OLIVIERI O., RONCHI B., LACETERA N. G. (1988). Razionamento minerale del cavallo. Aspetti applicativi. *Documenti veterinari* n. 10 pag. 53-54.

- NANNARONE S., CAVALLUCCI C., MACOLINO G., PEPE M., BONANZINGA M. (2003). Orthopaedic disease: effect of diet and stallion. 54th Annual Meeting of European Association for Animal Production, Rome, Italy; 31 Aug-3 Sept 2003 session IV (H4/7).
- OTT E. A., and ASQUITH R.L., DVM (1994). Trace mineral supplementation of broodmares. *Journal of equine veterinary science* vol. 14 number 2.
- SAVAGE C. J., McCARTHY R. N. and JEFFCOTT L. B. (1993). Effects of dietary energy and protein on induction of dyschondroplasia in foals. *Equine vet. J.*, suppl. 16 pag. 74-79.
- WEEREN P. R. and BRAMA P. A. J. (2001). Physiology and pathology of the equine joint. *Pferdeheilkunde* 17 (2001) 4 (Juli-August) pag. 307-318.
- WOLTER R. (1996). Osteocondrosi e alimentazione nel cavallo. *Riv. SIDI* 2 (2): pag. 27-32.

DOSAGGIO SPETTROFOTOMETRICO DI CISTINA+CISTEINA NELLA LANA DI OVINI DI RAZZA CORNIGLIESE: RISULTATI PRELIMINARI ⁽¹⁾

Beretti V., Zambini E.M., Cecchini L., Zanon A., Superchi P., Sabbioni A.⁽²⁾

Introduzione

L'Italia ha vissuto negli ultimi decenni una fase di espansione economica, dalla quale sono emerse le differenti vocazioni del suo territorio, che vede spesso al margine dello sviluppo le aree montane, a causa della bassa produttività agricola e della modesta presenza degli altri settori. In tali aree cd. "marginali", il microambiente assume quindi una valenza importante in relazione alle opportunità di reddito locali. Anche per questi motivi quando il territorio possiede risorse proprie, non diffuse altrove, si ritrova una potenzialità in più, che le popolazioni hanno il dovere di valorizzare per farne una fonte di reddito complementare, da aggiungere a quelle delle attività ordinarie.

Le razze autoctone, selezionate nel corso dei secoli e perfettamente adattate al territorio, ognuna con peculiari caratteristiche funzionali e produttive, si configurano come un patrimonio genetico unico e insostituibile, e per la zona di origine rappresentano una risorsa.

In questa prospettiva si collocano anche le razze autoctone della provincia di Parma (cavallo Bardigiano, pecora Cornigliese, suino Nero Parmigiano), animali presenti da tempo nei territori collinari e montani della provincia e che oggi sono sottoposti a interventi selettivi, di valorizzazione o di semplice conservazione.

La salvaguardia delle razze autoctone, in generale, evita la perdita di specifiche combinazioni geniche, permette di sfruttare le peculiarità funzionali e produttive degli animali e quindi favorisce lo sviluppo di attività umane sul territorio (Pastore, 2002). Le tappe di un intervento di salvaguardia di una razza autoctona vanno dalla identificazione all'inventario, dalla gestione alla valutazione ed infine coinvolgono la valorizzazione.

La razza ovina Cornigliese o Pecora di Corniglio è una popolazione originaria dell'Appennino parmense, nota fino dalla metà del 1700. Si ritiene che derivi da incroci praticati all'epoca del governo dei Borboni, fra popolazioni locali e arieti di razza Merina importati dalla Spagna per migliorare la produzione di lana (ASSONAPA, 2004). Fonti bibliografiche risalenti all'inizio del 1900 la considerano già come razza, descrivendola come ovino a vello chiuso e con eccellente produzione di lana (Manetti, 1927). Rabotti (1937) suddivide il patrimonio ovino della

¹ Ricerche condotte con fondi FIL – Univ. Parma (2004; responsabile: Prof. A.Sabbioni).

² Dipartimento di Produzioni Animali, Biotecnologie Veterinarie, Qualità e Sicurezza degli Alimenti; Sezione di Scienze Zootecniche e Qualità delle Produzioni Animali. Indirizzo per corrispondenza: valentino.beretti1@unipr.it

provincia di Parma in due gruppi, denominati “tipo Valtarese” e “tipo Cornigliese”. Descrivendo quest’ultimo tipo l’autore ipotizza che la razza Cornigliese derivi dalla razza “Vissana” dell’Italia Centrale anche se molti soggetti denotano l’influenza della razza Bergamasca utilizzata per incrementare la produzione di carne. L’influsso di razze merinizzate e della Bergamasca nella popolazione ovina Cornigliese sono chiaramente riportate in letteratura; il Rabotti riporta che per opera di Antonio Bizzozzero, Direttore della Cattedra Ambulante di Agricoltura della Provincia di Parma verso gli inizi del ‘900, vennero impiegati numerosi contributi per l’acquisto di arieti Gentili di Puglia, Bergamaschi, Biellesi ma anche di pura razza Merinos; anche se fu la razza Padovana, attualmente estinta, la più impiegata per migliorare la razza Cornigliese (Guardasoni, 1954).

La popolazione attualmente allevata in provincia di Parma non è al momento adeguatamente conosciuta dal punto di vista zootecnico; nonostante questo la Cornigliese viene ritenuta la più importante razza ovina autoctona dell’Emilia-Romagna.

La razza Cornigliese è iscritta nel Registro nazionale per le popolazioni ovi-caprine autoctone a limitata diffusione dell’ASSONAPA. L’Unione Europea attraverso i regolamenti 2078/92 e 1257/99 eroga finanziamenti per la protezione di questa razza, e la regione Emilia-Romagna assegna contributi agli allevatori che si impegnano ad allevarla per almeno 5 anni in purezza (Monitoring Institute for rare breeds and seeds in Europe, 2001). La zona di allevamento di questa popolazione ovina è l’Alto Appennino parmense e reggiano; alcuni nuclei risultano presenti in provincia di Bologna.

Il tipo di allevamento è estensivo e transumante nelle zone montane di origine; semi-stanziale in alcuni allevamenti di recente costruzione.

La consistenza attuale della razza, si aggira intorno ai 700 soggetti, distribuiti in provincia di Parma fra i comuni di Palanzano, Corniglio e Monchio delle Corti. I caratteri distintivi della razza Cornigliese desunti dallo standard di razza (ASSONAPA, 2004) sono rappresentati da una taglia grande (femmine 70-75 kg; maschi 90-100 kg); la testa è acorne in entrambi i sessi ed a profilo montonino, più o meno picchiettata e macchiata di nero soprattutto sul musello (la cosiddetta “mosca al naso”). Le orecchie sono lunghe, larghe e cadenti lateralmente; gli arti sono robusti e ben piantati, più o meno picchiettati e macchiati di nero. Il vello è bianco, con eventuali macchie, ricoprente anche il ventre, la parte superiore degli arti e parzialmente la testa, a lana semifine compatta.

La razza viene attualmente allevata in provincia di Parma allo scopo di produrre carne; tuttavia consultando i risultati dei controlli funzionali per la produzione del latte ovino, pubblicati annualmente dall’Associazione Italiana Allevatori (AIA, 2004), è possibile notare che soggetti Cornigliesi sono controllati anche per questa attitudine, in allevamenti in provincia di Bologna, con produzioni di tutto rispetto (150 litri di latte prodotti in 180 giorni).

La produzione della lana, anche se in misura inferiore rispetto alle altre produzioni zootecniche, può conservare un certo interesse, se venisse impiegata per la produzione di filati nell’ambito di contesti fortemente coinvolti con le attività agrituristiche. Questo porterebbe a trasformare un prodotto ormai da molti considerato di basso pregio, o addirittura di scarto, in una fonte di reddito e quindi in una risorsa

che valorizzerebbe questa razza ovina autoctona.

Per farlo però risulta indispensabile conoscere le proprietà tessili della lana di Cornigliese, tramite una valutazione oggettiva, che tenga in considerazione parametri fisici (finezza, lunghezza, resistenza alla compressione, grado di bianco) e chimici (dosaggio di cistina+cisteina), e che sia in grado di fornire elementi di confronto con altre razze.

E' noto che il principale costituente della lana è la cheratina, proteina formata da numerosi α -aminoacidi policondensati in macromolecole. Queste, per le caratteristiche di struttura degli aminoacidi, presentano catene laterali contenenti gruppi funzionali acidi e basici che formano legami intermolecolari covalenti e ionici, conferendo alla fibra di lana la classica struttura reticolata (Ubertalle et al., 1993). Accanto a legami chimici longitudinali (cioè disposti secondo la lunghezza della catena polipeptidica), nella lana esistono numerosi legami trasversali, tra cui i ponti disolfuro dei radicali cistinici; questi, legando catene proteiche adiacenti, modificano la configurazione spaziale della fibra di lana (Ryder et al., 1968).

I ponti disolfuro sono responsabili di molte proprietà tessili della lana; per questa ragione è necessario effettuarne una valutazione quantitativa mediante il dosaggio della cistina presente nell'idrolizzato (Gallico et al., 1991).

L'obiettivo della presente ricerca, che si inserisce in un più vasto progetto, volto al recupero produttivo della razza, è la valutazione del contenuto di cistina+cisteina della lana.

Materiali e Metodi

Durante le operazioni di tosa annuale, effettuate nel mese di aprile, sono stati prelevati 37 campioni di lana sucida da altrettanti soggetti, maschi e femmine, allevati nell'Alto Appennino Reggiano, regolarmente iscritti al registro anagrafico della razza Cornigliese. I campioni sono stati prelevati dalla regione del fianco, considerata ottimale per l'ottenimento di un campione rappresentativo di tutto il vello (Bellitti et al., 1968; 1973). Sulla lana, lavata e sgrassata, è stata eseguita in via preliminare la determinazione del peso secco su un grammo di campione. La determinazione spettrofotometrica del contenuto in cistina+cisteina, secondo la metodica ufficiale IWTO 15-98 (International Wool Textile Organisation, 2004), consiste nella riduzione del legame disolfuro della cistina con metabisolfito di sodio, e nella valutazione colorimetrica della cisteina formatasi, usando l'acido fosfo-18-tungstico. La lana vergine contiene anche piccole quantità di cisteina che viene inclusa nella valutazione di cistina+cisteina. La metodica prevede l'idrolisi di 0,3 g di lana in 8 ml di acido solforico 6 N, in stufa a 105 ± 2 °C per 10 ore. L'idrolizzato viene poi lasciato raffreddare, portato al volume di 100 ml con acqua distillata e filtrato su carta.

Il dosaggio della cisteina viene effettuato preparando una soluzione formata da 5 ml di idrolizzato, 15 ml di tampone acetato a pH 5,6 e 2 ml di acido fosfo-18-tungstico.

Dopo agitazione si lascia riposare la soluzione per 20-30 minuti, quindi

si porta al volume di 25 ml con acqua distillata e si misura la densità ottica allo spettrofotometro; il valore ottenuto, diviso per 5, viene indicato con Etf.

Il dosaggio di cistina+cisteina viene effettuato preparando una soluzione formata da 1 ml di idrolizzato, 5 ml di soluzione tampone, 1 ml di soluzione di metabisolfito di sodio e 2 ml di acido fosfotungstico. L'idrolizzato tamponato reagisce con metabisolfito di sodio che riduce il residuo cistinico (dimero) a residuo cisteinico (monomero) che legandosi all'acido fosfo-18-tungstico produce un composto che sviluppa una colorazione blu, la cui intensità è proporzionale alla concentrazione di cistina+cisteina nell'idrolizzato.

Dopo agitazione si lascia riposare la soluzione per 20-30 minuti, quindi si porta al volume di 25 ml con acqua distillata e si misura la densità ottica allo spettrofotometro indicando il valore ottenuto con Ed(2t)f.

Le misure di densità ottica sono state effettuate con uno spettrofotometro Helios Gamma a una lunghezza d'onda di 800 nm, utilizzando acqua deionizzata come soluzione di riferimento. Lo strumento è stato tarato con una soluzione standard contenente 10 mg di cistina in 20 ml di acido solforico 6 N, portati a 250 ml di volume; la lettura del valore ottenuto viene indicato come Es. Le determinazioni sono state effettuate in doppio.

I valori della somma cistina+cisteina sono stati calcolati con la seguente formula:

$$C = [100 * (Ed(2t)f - Etf)] / 25 * Es * W$$

dove W indica il peso secco (g) del campione da analizzare.

I dati ottenuti espressi in % di cistina+cisteina sugli aminoacidi totali sono stati elaborati attraverso il package S.P.S.S. (ver. 12.1, 2003), eseguendo l'analisi della varianza ed impiegando due modelli distinti:

1) sull'intero gruppo di animali oggetto di studio:

$$Y_{ijkl} = \mu + S_i + A_j + GA_k + \varepsilon_{ijkl}$$

Dove: Y_{ijkl} = singola osservazione

μ = media generale

S_i = effetto fisso del sesso ($i = 1,2$)

A_j = effetto fisso della classe di anno di nascita ($j = 1, \dots, 3$)

GA_k = effetto fisso del gruppo di analisi ($k = 1, \dots, 5$)

2) sulle femmine, inserendo il fattore parto, come momento fisiologico importante per evidenziare l'influenza possibile della lattazione sul contenuto di aminoacidi solforati nel vello:

$$Y_{ijkl} = \mu + CP_i + A_j + GA_k + \varepsilon_{ijkl}$$

Dove: Y_{ijkl} = singola osservazione

μ = media generale

CP_i = effetto fisso della effettuazione del parto ($i = 1,2$)

A_j = effetto fisso della classe di anno di nascita ($j = 1, \dots, 3$)

GA_k = effetto fisso del gruppo di analisi ($k = 1, \dots, 5$)

Risultati e discussione

Il valore medio (\pm DS) del contenuto di cistina+cisteina negli idrolizzati di lana di pecora Cornigliese è risultato pari a $11,03\% \pm 0,72$. Forte è risultata la variabilità individuale, con valori estremi da un massimo di $12,44\%$ ad un minimo di $9,50\%$.

Com'è noto, il valore in cistina+cisteina raggiunge valori superiori al 12% soprattutto nelle razze merinizzate; esso è minore nelle razze non specializzate e tende a diminuire ulteriormente se il gruppo disolfuro della cistina viene attaccato da agenti riducenti o ossidanti, dalla luce, dall'acqua o dal calore (Ubertalle et al., 1993). Mettendo a confronto la razza Cornigliese con le altre popolazioni ovine italiane (grafico 1), si evidenzia come la prima presenti un valore medio-alto; questo parametro è molto importante per definire le caratteristiche tessili ma non sufficiente, essendo indispensabile integrarlo con altri parametri qualitativi.

Con riferimento ai fattori che hanno influito sul contenuto di cistina+cisteina della lana di pecore Cornigliesi (tabella n.1), solo il sesso è risultato significativo ($P < 0,05$); analizzando invece i dati derivanti dalle sole femmine, nessuno dei fattori è risultato avere un'influenza significativa ($P > 0,05$).

La tabella n.2 riporta le medie stimate per sesso, classe di età e parto. I maschi hanno evidenziato un valore medio superiore rispetto alle femmine, con una differenza, significativa, pari al $13,8\%$. Nella razza Altamura tale differenza era già stata messa in evidenza da Bellitti et al. (1973) e giustificata con l'assenza, nei maschi, di situazioni di competitività con altre produzioni (gravidanza e lattazione).

L'età degli animali ha portato a differenze nel contenuto di cistina+cisteina della lana che, pur non raggiungendo la significatività statistica ($P > 0,05$), orientano nell'assegnare agli animali più vecchi i valori più elevati. Bellitti et al. (1973) attribuiscono tale fenomeno, da loro osservato anche nella razza Altamura, alla minore competitività, nei soggetti adulti, per le sostanze proteiche alimentari, rispetto ai giovani.

Le pecore che avevano sostenuto un parto precedentemente alla tosa hanno mostrato contenuti inferiori, anche se in misura non significativa ($P > 0,05$), rispetto a quelle che dovevano ancora partorire, con differenze pari al $5,5\%$.

Conclusioni

I risultati preliminari, cui siamo pervenuti, consentono di valorizzare la lana delle pecore di razza Cornigliese nel panorama delle razze ovine italiane; il valore medio di cistina+cisteina, pari a $11,03\%$, pone la razza a ridosso di quelle di

derivazione merina (Sopravissana, Gentile di Puglia) ed autorizza ad assegnare alla lana di questa razza una concreta prospettiva di utilizzo nel campo tessile.

I valori ottenuti andranno confermati su un numero più alto di animali, anche al fine di stimare meglio gli effetti dei diversi fattori. A tale scopo, durante le operazioni di tosa che verranno effettuate nel 2005 saranno prelevati altri campioni di vello sui quali verrà eseguita, oltre alla determinazione del contenuto di cistina+cisteina, la valutazione del diametro e della lunghezza della fibra.

Ringraziamenti: gli Autori ringraziano il Dott. R. Innocenti e la Dott.essa M. Zoccola, dell'Istituto per lo studio delle Macromolecole (ISMAC) del CNR di Biella, per la collaborazione prestata nella messa a punto della metodica.

RIASSUNTO

Gli Autori espongono i risultati di indagini condotte sulla lana di pecore Cornigliesi, al fine di determinarne il contenuto di cistina+cisteina. Il contenuto medio è risultato pari all'11,03% degli aminoacidi ed è stato influenzato significativamente ($P<0,05$) dal sesso (maschi: 12,448%; femmine: 10,938%); gli animali più anziani e quelli che non avevano partorito al momento della tosa hanno mostrato valori più elevati; tuttavia questi fattori non sono risultati significativi ($P>0,05$).

Summary – Colorimetric determination of cystine+cysteine in Cornigliese wool: preliminary results.

The Authors refer the results of a study about the cystine+cysteine content of Cornigliese wool; the mean content resulted 11.03% of total aa. It was significantly ($P<0.05$) affected by sex (males: 12.448%; females: 10.938%); moreover, the oldest animals and those not farrowed before the wool shear showed the highest values, but the factors were not significant ($P>0.05$).

Bibliografia

A.I.A.: Controlli della produttività del latte in Italia, statistiche ufficiali 2003, edizioni ATEL Roma 2004.

ASSONAPA: Norme Tecniche Della Popolazione Ovina Cornigliese, http://www.assonapa.com/norme_ecc/OVINI-RA_Standard_WEB/Standard-Cornigliese.htm

BELLITTI E., CIRUZZI B., DI LEO V.: L'influenza dei fattori bio-ecologici sulla produzione della lana, parte 2°. "Il contenuto di cistina e cisteina delle lane gentili di puglia nei diversi stadi di accrescimento". Annali della Facoltà di Agraria di Bari, 22, 333-348, 1968.

BELLITTI E., VONGHIA G., BUFANO G., MUSCIO A.: L'influenza dei fattori bio-ecologici sulla produzione della lana, parte 4°. "Variazioni annuali del contenuto

di cistina e cisteina nelle lane Altamurane” Annali della Facoltà di Agraria di Bari, 26, 867-882, 1973.

GALLICOL., POZZO P.D., RAMELLA POLLONE F., ZOCCOLA M.: Lane d'Italia. CNR, Istituto di Ricerca e Sperimentazione Laniera “O. Rivetti”, Biella. 1991.

GUARDASONI M.: Appunti Di Zootecnica Speciale, Editore Casanova, Parma 1954.

INNOCENTI R., ZOCCOLA M.: Composizione in aminoacidi delle lane di 14 razze ovine italiane determinata mediante cromatografia liquida ad alte prestazioni. Rivista Laniera 2, 181-187 1992.

I.W.T.O.: Method for the colorimetric determination of cystine plus cysteine in wool hydrolysates, Draft TM-15-98, Walters and Brothers, London 2004.

MANETTI C.: La pecora, Antonio Vallardi Editore, Milano 1927.

MONITORING INSTITUTE FOR RARE BREEDS AND SEEDS IN EUROPE: Risorse Genetiche Agrarie In Italia, San Gallo, CH, 2001.

PASTORE E.: Le razze ovine autoctone del Veneto. Ed. Veneto Agricoltura, settore Ricerca e Sperimentazione Agraria ed Ittica, 2002.

RABOTTI G.: Gli Ovini in “Agricoltura Parmense”, numero speciale de “L’Avvenire Agricolo”, anno 45° XV 1937.

RYDER M.L., STEPHENSON S.K.: Wool Growth, Academic Press, London, New York (1968).

SPSS: Ver. 12.0.1 Base Manual. SPSS Inc., Chicago, IL, USA 2003.

UBERTALLE A., FORTINA R., BATTAGLINI L.M.: Dosaggio spettrofotometrico di cistina+cisteina in idrolizzati di lana. Zootecnica e Nutrizione Animale. 19, 113-117, 1993.

Grafico 1 – *Contenuto in cistina+cisteina della lana delle razze ovine italiane (da Gallico et al., modificato).*

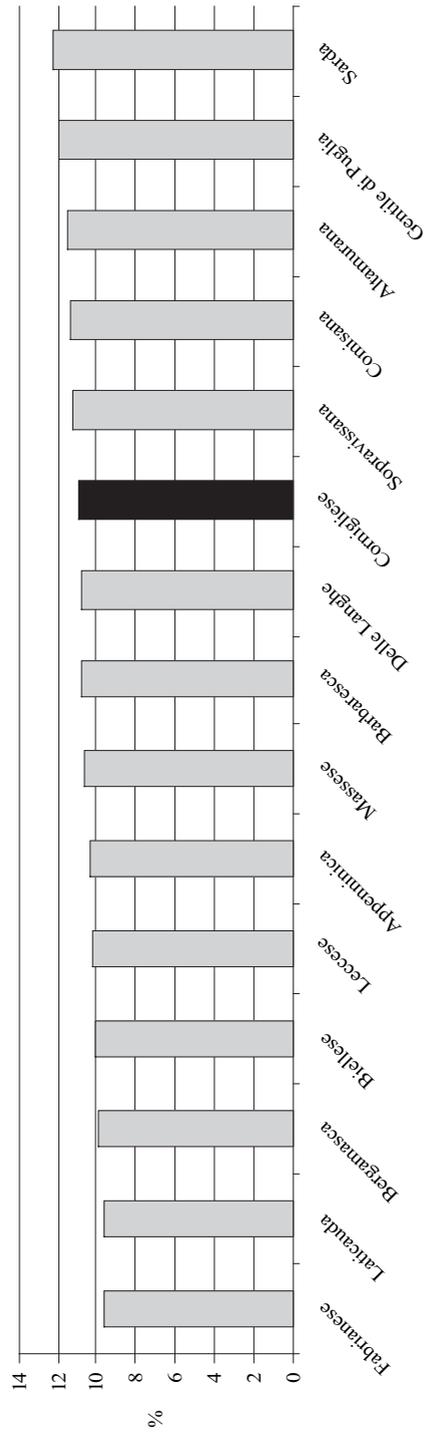


Tabella n. 1 - *Analisi della varianza del contenuto di cistina+cisteina nella lana di soggetti di razza Cornigliese.*

Fonte di variabilità	Gradi di libertà	σ^2	P
Modello 1			
Sesso	1	1,982	<0,05
Classe di anno di nascita	2	0,688	0,259
Gruppo di analisi	4	0,160	0,857
Errore	29	0,486	-
Modello 2			
Classe di effettuazione del parto	1	0,834	0,144
Classe di anno di nascita	2	0,650	0,191
Gruppo di analisi	4	0,412	0,364
Errore	18	0,358	-

Tabella n.2 - *Medie stimate del contenuto di cistina+cisteina della lana di soggetti di razza Cornigliese in relazione al sesso, alla classe di anno di nascita e al parto.*

Fattori	Valori Cys+Cis	Valori Cys+Cis
	Modello 1	Modello 2
Sesso		
maschi	12,448 b	-
femmine	10,938 a	-
Anno di nascita		
1998-2000	12,014	11,792
2001-2002	11,659	11,151
2003	11,405	11,016
Parto effettuato		
SI	-	11,004
NO	-	11,635

a,b: P<0,05

INFLUENZA DELLA TECNICA ALIMENTARE SULL'EFFICIENZA PRODUTTIVA NELLA SPECIE CAPRINA.^{1,2}

Superchi P., Summer A., Seghesio C., Sabbioni A., Malacarne M., Franceschi P.,
Formaggioni P., Mariani P.*

INTRODUZIONE

L'allevamento caprino, pur rappresentando una realtà zootecnica a diffusione limitata sul territorio nazionale, suscita discussioni a volte contrastanti che portano ad elogiarne le caratteristiche produttive o ad elencarne i limiti.

Un crescente interesse è rivolto alla produzione del latte, per le indubbie caratteristiche qualitative intrinseche che lo rendono adatto sia al consumo diretto sia alla trasformazione casearia (Cattaneo e Giangiacomo, 2002; Furesi *et al.*, 2002; Giangiacomo, 2003).

Tuttavia, il mercato lattiero-caseario soffre l'incertezza di una scarsa standardizzazione delle produzioni, la cui analisi non può avvenire senza considerare lo studio degli effetti che le tecniche di allevamento e alimentari esercitano sulle caratteristiche qualitative del latte (Bailoni e Andrighetto, 1995; Schmidely *et al.*, 1999; Bava *et al.*, 2001; Su-Ak *et al.*, 2002; Nudda *et al.*, 2002; Nudda *et al.*, 2003).

MATERIALI E METODI

L'indagine è stata condotta presso 2 aziende, site in provincia di Alessandria, differenti per tipologia di allevamento, essendo di tipo semi-intensivo (AZIENDA 1) in un caso ed intensivo (AZIENDA 2) nell'altro. Nell'ambito di ciascun allevamento è stato formato un gruppo di 12 capre di razza Saanen; i due gruppi sono risultati comparabili per casi di gemellarità (17,39%) e per ordine di parto (5 primipare, 7 pluripare). Lo stadio di lattazione, all'inizio dell'indagine, è risultato pari a 50 ± 19 d. Il peso vivo medio delle primipare è risultato di 40 kg e quello delle pluripare di 60 kg.

Il periodo sottoposto a controllo produttivo è durato da aprile ad agosto.

* Dipartimento di Produzioni Animali, Biotecnologie Veterinarie, Qualità e Sicurezza degli Alimenti - Università degli Studi di Parma

¹ Ricerche condotte con il contributo finanziario del MIUR (quota 60%)

² Presentato come poster al XVI Convegno Nazionale SIPAOC (Siena, 29/9-2/10, 2004)

NOTA- L'esecuzione dell'indagine spetta in parti uguali agli Autori

Di seguito vengono riportati, per ciascun gruppo, la composizione della razione (sulla s.s.) e il consumo giornaliero di sostanza secca/capo:

Azienda 1 (tradizionale)		Azienda 2 (unifeed)	
Mangime compl. (17% PG)	kg 0,708	Mangime compl. (24% PG)	kg 0,609
Fieno misto	kg 1,878	Mais farina	kg 0,609
Pascolo	kg 0,315	Fieno misto	kg 1,044
kg ss assunta	2,901	kg ss assunta	2,262

Nell'azienda 1, gli animali, dopo avere consumato metà della quantità giornaliera prevista di mangime e fieno, venivano lasciati al pascolo per circa 4 ore. I residui di fieno, lasciati giornalmente in mangiatoia, sono stati pari, mediamente, al 15%.

Il consumo di sostanza secca, derivante dal pascolo, è stato stimato per differenza sulla base della quantità di sostanza secca assunta da capre in lattazione del peso vivo medio di 50 kg, come riportato da Morand-Fehr e Sauvant (1988).

Nell'azienda 2, la razione, preparata mediante un carro carica-trincia-miscelatore, è stata trinciata ad una lunghezza di taglio di 2,5 cm e quindi somministrata a secco, in un'unica soluzione, dopo la mungitura del mattino. Gli eventuali residui presenti, venivano allontanati dalla mangiatoia poco prima della foraggiata successiva.

L'acqua, lasciata a libera disposizione, è stata distribuita mediante abbeveratoi automatici.

Tabella 1 - *Composizione chimica delle razioni.*

		Azienda 1 (tradizionale)	Azienda 2 (unifeed)
Umidità	%	22,31	10,40
Ceneri gregge	% s.s.	9,43	7,31
Proteine gregge	“	11,40	17,80
Sostanze grasse gregge	“	2,52	3,13
Cellulosa greggia	“	27,90	22,25
Amido	“	18,19	24,26
NDF	“	54,66	42,35
ADF	“	38,54	26,07
ADL	“	6,03	5,38
NPN	%PG	18,28	24,05
N sol	%PG	38,44	28,86
UFL	% s.s.	72	80

Alla nascita, i capretti sono stati lasciati con la madre per 72 ore dopodiché sono stati allevati in box su lettiera permanente e alimentati con latte ricostituito.

In entrambi gli allevamenti sono state effettuate due mungiture, a distanza di 12 ore l'una dall'altra, con mungitrice meccanica. Il latte è stato raccolto in tanks refrigerati (+4 °C) e conferito al caseificio ogni 24 ore.

Sui campioni di alimenti, prelevati mensilmente, sono state valutate la composizione chimica centesimale (ASPA, 1980), le frazioni fibrose (Van Soest *et al.*, 1991) e le frazioni azotate (Krishnamoorthy *et al.*, 1983; Sniffen *et al.*, 1992) (tabella 1).

Sui singoli animali, con cadenza mensile, è stata valutata la produzione latte giornaliera ed è stato prelevato un campione di latte, rappresentativo dell'intera mungitura del mattino, sul quale si è proceduto alla determinazione dei parametri fisico-chimici:

- pH mediante potenziometro e acidità titolabile con elettrotitolatore automatico Crison Compact D secondo il metodo di Soxhlet-Henkel (Anon., 1963);
- punto di congelamento (°C) con crioscopio a termistori;
- grasso, proteina e lattosio, mediante letture nel medio infrarosso con Milkoscan 134 A/B (Biggs, 1978);
- sostanza secca per essiccazione a 100°C;
- ceneri per calcinazione in muffola a 530°C su 20 g di latte (Savini, 1946): - Ca, Mg, K, Na, mediante spettrofotometria di Assorbimento Atomico (Anon., 1982); - fosforo totale mediante analisi colorimetrica (Allen, 1940);
- urea, per reazione enzimatica catalizzata da ureasi (Pecorari *et al.*, 1993) con apparecchio Bun Analyzer;
- cellule somatiche, con metodo fluoro-opto-metrico mediante apparecchio Fossomatic 250 (Schmidt-Madsen, 1975);

lattodinamometrici:

- si sono valutati i parametri di coagulazione presamica (Annibaldi *et al.*, 1977) mediante Formagraph: r= tempo di coagulazione; k₂₀= tempo di rassodamento del coagulo (tempo trascorso dall'aggiunta del caglio a quando il tracciato lattodinamografico raggiunge un'apertura di 20 mm); a₃₀= consistenza del coagulo misurata a 30 min dall'aggiunta del caglio.

Ai campioni di latte risultati non reattivi al caglio entro il tempo tecnico di analisi (30 min), al fine di ottenere medie il più possibile rappresentative dell'insieme delle osservazioni, è stato arbitrariamente attribuito un valore di 31 minuti per il tempo di coagulazione; lo stesso valore è stato attribuito al k₂₀ per i latti con k₂₀ infinito e zero mm per il corrispondente a₃₀ (Mariani *et al.*, 1990).

Per valutare le caratteristiche quanti-qualitative del latte, in rapporto allo stadio di lattazione, i campioni prelevati sono stati suddivisi in classi (<= 60 d; tra 61 e 90 d; tra 91 e 120 d; tra 121 e 150 d; tra 151 e 180 d; > 180 d).

I dati relativi a ciascuna azienda, sono stati sottoposti ad ANOVA (SPSS, 11.5), adottando il seguente modello:

$$Y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_k + \alpha\gamma_{ik} + \beta\gamma_{jk} + \epsilon_{ijkl}$$

dove:

μ = media generale;

α_i = tipo di parto (singolo o gemellare, 1, 2);

β_j = ordine di parto (1, 2);

γ_k = stadio di lattazione (1, ..., 6)

ϵ_{ijkl} = errore residuo.

RISULTATI E DISCUSSIONE

- Caratteristiche del latte:

a) - Azienda 1

La produzione media giornaliera di latte è stata di 3,59 kg (DS= 0,99) .

Il tenore di sostanza secca, pari al 10,99 ± 1,49%, è risultato in linea con quanto riportato da Pilla *et al.* (1980) per capre Saanen e riflette i bassi contenuti di proteine e lattosio che sono risultati, rispettivamente, del 2,34 ± 0,22% e del 4,14 ± 0,27%.

Superiore di 0,56 unità percentuali, rispetto a quanto riportato da Pilla *et al.* (1980), è risultato invece il tenore di grasso (3,48 ± 1,11%). Il contenuto di ceneri, che ha toccato lo 0,74%, ha denunciato un coefficiente di variabilità dell'11%.

Nonostante l'assenza di patologie conclamate a carico delle mammelle il numero di cellule somatiche, pur rimanendo, mediamente, al di sotto della soglia di 1,5 milioni di unità/ml, considerata un obiettivo appropriato per migliorare la condizione igienico-sanitaria dell'allevamento dei piccoli ruminanti (Colafrancesco *et al.*, 1998), è risultato superiore rispetto a quanto rilevato, sempre in capre Saanen, da Aleandri *et al.* (1994).

Il basso valore di acidità titolabile riscontrato, pari a 2,51 ± 0,37°SH/50 ml, conferma quanto riportato da Jelinek *et al.* (1994) e da Piasentier *et al.* (2000), secondo i quali l'acidità titolabile di latti individuali di capre con mammelle anche clinicamente sane risulta significativamente più basso quando le cellule somatiche superano il livello di 1 milione di unità/ml.

Il punto di congelamento è risultato pressoché sovrapponibile a quanto riscontrato da Scatassa *et al.* (2002), su latte caprino prodotto in Sicilia.

Il pH, che ha raggiunto un valore medio pari a 6,68 ± 0,09, è risultato in linea con quanto riportato da Castagnetti *et al.* (1984).

Da molto tempo il contenuto di urea del latte è oggetto di numerose ricerche, soprattutto nella bovina, per la possibilità di utilizzare tale parametro quale indicatore dello stato nutrizionale proteico ed energetico del ruminante.

Tuttavia, il concetto di collegare i valori alti o bassi di urea al solo eccesso o difetto proteico della razione può risultare, talvolta, semplicistico, poiché oltre ai fattori propriamente alimentari (rapporto proteine/energia, tenore di proteina grezza, consumo di sostanza secca, ecc.) vi sono quelli legati allo stato fisiologico dell'animale, al periodo stagionale e al management.

Brun-Bellut *et al.* (1984), operando su capre in lattazione, riportano che se

il livello di allantoina nelle urine è basso e l'urea del latte supera i 30 mg/100 ml vi è uno scarso apporto con la dieta di energia fermentescibile; viceversa, se l'urea è al di sotto dei 28 mg/100 ml, la dieta apporta scarsi quantitativi di azoto degradabile a livello ruminale.

Bedo *et al.* (1998), a seguito della stretta relazione osservata, in capre Saanen, tra il tenore di lattosio ed urea del latte ed il rapporto proteine/energia della razione, concludono che tali parametri possono essere usati come indice dello stato energetico e proteico dei piccoli ruminanti in lattazione, specialmente se questi vengono sottoposti a pascolamento.

Daccord (2002) sostiene che l'apporto proteico della razione può essere considerato adeguato quando il contenuto di urea del latte varia tra i 30 e i 40 mg/100 ml.

Nella nostra indagine, il valore di urea è stato di $42,52 \pm 9,66$ mg/100 ml.

Differenze, anche di rilievo, si sono riscontrate per quanto riguarda i valori di alcuni costituenti minerali osservati in questa ricerca, in confronto a quelli riportati da Jenness (1980) e da Mariani *et al.* (1987); in particolare, i lattici qui analizzati risultano scarsamente provvisti di fosforo (719 ± 68 ppm) e di calcio (964 ± 159 ppm); nella norma invece appaiono i tenori di magnesio, sodio e potassio.

Tabella 2 - Parametri produttivi in rapporto allo stadio di lattazione (AZIENDA 1)

		Stadio di lattazione					
		≤60°d	61°-90°d	91°-120°d	121°-150°d	151°-180°d	>180°d
Prod. latte	kg/giorno	4,72	4,30	4,16	3,26	2,88	2,40
Sost. secca	%	12,29c	11,69bc	10,69abc	10,83ab	11,23bc	9,86a
Ceneri	%	0,74	0,73	0,73	0,73	0,73	0,76
Grasso	%	4,13B	3,89B	3,29B	3,52B	3,76B	2,31A
Proteine	%	2,58c	2,47c	2,18a	2,21a	2,32ab	2,42bc
Lattosio	%	4,44C	4,24BC	4,15ABC	4,02A	4,12AB	4,00A
Cell. somatiche	10 ³ /ml	1140	1361	1359	1972	1657	1109
Punto congelam.	Δ °C	0,546	0,549	0,545	0,546	0,547	0,543
pH		6,65	6,70	6,72	6,68	6,70	6,65
Acidità tit.	°SH/50 ml	2,82B	2,54AB	2,28A	2,36A	2,57AB	2,67AB
Urea	mg/100 ml	40,33	42,61	48,25	44,72	37,34	40,77
r	min	9,71a	12,08a	15,94ab	14,43a	19,64b	13,43a
k ₂₀	min	10,46a	12,09a	23,13bc	21,40bc	31,00c	20,06b
a ₃₀	mm	23,82c	23,78c	15,60ab	16,07b	7,09a	16,31b
P	ppm	782	739	673	699	711	741
Ca	ppm	991	981	995	864	1026	942
Mg	ppm	121AB	108A	118AB	116AB	119AB	128B
Na	ppm	256a	267ab	315bc	311c	298c	304c
K	ppm	1794	1852	1908	1989	1948	2039

a, b, c P<0,01; A,B, C P<0,05

Remeuf *et al.* (1989) riferiscono che il comportamento del latte di capra, durante la coagulazione presamica, si caratterizza, rispetto a quello di vacca, per un tempo di presa inferiore, per una più veloce formazione del coagulo e per una minore consistenza dello stesso.

Il tempo di coagulazione, mediamente pari a $14,61 \pm 5,52$ min, è risultato sovrapponibile a quello riportato da Rubino (1996) e superiore a quanto emerso dalle ricerche di Mariani *et al.* (1987). Altre differenze, probabilmente da ascrivere ai diversi equilibri salini realizzatisi nei latti oggetto della presente indagine, hanno riguardato, rispetto ai valori riportati dai succitati Autori, il maggior tempo richiesto per il rassodamento del coagulo e la sua consistenza che è risultata inferiore.

Le pluripare, rispetto alle primipare, sono risultate più produttive (+28%; $P < 0,001$) e hanno fornito un latte caratterizzato da un'acidità titolabile ($2,59$ vs $2,43^\circ\text{SH}/50$ ml) più elevata ($P < 0,05$) e da un tenore di magnesio (112 vs 124 ppm) inferiore ($P < 0,05$).

Il parto gemellare ha favorevolmente influenzato la produzione di latte (+10%; $P < 0,05$) ed il tenore di proteine (+9%; $P < 0,01$), di lattosio (+10%; $P < 0,01$) e di fosforo (+10%; $P < 0,01$).

Nel corso del ciclo produttivo (tabella 2), si sono avute variazioni significative della composizione chimica del latte relativamente alla sostanza secca, che ha manifestato un andamento altalenante, denunciando il valore più basso a oltre 180 d di lattazione ($P < 0,01$), al tenore di grasso, che si è ridotto di circa il 44% ($P < 0,05$), alla proteina che ha toccato i valori minimi tra il 91° ed il 150° d ($P < 0,01$) ed al lattosio, che è risultato pari al 4,44% per le capre in produzione latte da meno di 60 d dal parto e al 4,00% per quelle con oltre 180 d di lattazione ($P < 0,05$).

L'acidità titolabile si è ridotta nel corso della lattazione ($P < 0,05$); i valori più bassi si sono avuti tra il 90° ed il 150°d.

Tra i minerali, le variazioni più importanti hanno interessato il tenore di sodio, che è progressivamente aumentato ($P < 0,01$) nel corso della lattazione.

I parametri di coagulazione sono peggiorati con il procedere del ciclo produttivo ($P < 0,05$); in particolare, nel periodo compreso tra il 151° e il 180°d, la coagulazione è stata molto lenta, il coagulo non si è rassodato entro il tempo tecnico di analisi e ha denunciato una scarsa consistenza.

b) - Azienda 2

La produzione giornaliera di latte, mediamente pari a 3,10 kg ($DS=1,54$) è risultata piuttosto modesta. In questo caso, la ridotta assunzione di sostanza secca ha probabilmente rappresentato il fattore limitante l'espressione produttiva degli animali allevati, così come è emerso dalle indagini condotte da Adijaoudé *et al.* (2000).

La composizione chimica del latte si caratterizza per avere un contenuto di sostanza secca dell' $11,87 \pm 1,48$ % e trova giustificazione nella buona dotazione in componenti organici; i valori medi per grasso, proteine e lattosio, sono risultati pari,

rispettivamente, al $3,69 \pm 1,44$ %, al $2,74 \pm 0,51$ % e al $4,35 \pm 0,40$ %.

I contenuti di grasso e proteine hanno toccato valori superiori o dello stesso ordine di grandezza di quelli riportati da Manfredi (1997) per latte di capre ad elevata produttività (Saanen e Camosciata delle Alpi) allevate in Francia.

Il tenore in ceneri è risultato pari allo 0,78% (CV= 10%).

Il numero di cellule somatiche, pari a $1.690 \cdot 10^3$ /ml, è risultato superiore a quanto riscontrato da Aleandri *et al.* (1994) in capre Saanen. L'acidità titolabile ha toccato, mediamente, i $2,90 \pm 0,43$ °SH/50 ml; valori più elevati sono stati riscontrati da Mariani *et al.* (1987), i quali hanno però operato su latte caratterizzato dall'aver un numero di cellule somatiche inferiore a $700 \cdot 10^3$ /ml.

Il punto di congelamento è risultato pari a $0,551 \pm 0,001$ Δ °C.

Il pH, che ha toccato un valore medio pari a 6,66, ha denunciato una scarsa variabilità (CV=1,78%).

Decisamente al di sopra degli intervalli ritenuti ottimali in capre da latte (Brun-Bellut *et al.*, 1984; Daccord, 2002), è risultato il contenuto di urea ($50,91 \pm 10,67$ mg/100 ml).

Tabella 3 - Parametri produttivi in rapporto allo stadio di lattazione (AZIENDA 2)

		Stadio di lattazione					
		≤60°d	61°-90°d	91°-120°d	121°-150°d	151°-180°d	>180°d
Prod. latte	kg/giorno	3,56	3,58	2,96	3,18	2,36	2,92
Sostanza secca	%	13,08C	11,59AB	11,23AB	10,93A	12,12BC	12,25BC
Ceneri	%	0,77	0,77	0,76	0,77	0,78	0,78
Grasso	%	4,97C	3,50AB	3,05AB	2,89A	4,02BC	3,75BC
Proteine	%	2,72	2,74	2,67	2,62	2,76	2,95
Lattosio	%	4,47	4,41	4,38	4,26	4,27	4,31
Cell. somatiche	10^3 /ml	1258	1471	2047	1761	2270	1334
Punto congelam.	Δ °C	0,553	0,549	0,552	0,546	0,551	0,554
pH		6,74	6,66	6,63	6,64	6,63	6,63
Acidità tit.	°SH/50 ml	2,67a	2,82ab	2,80ab	2,76ab	3,06bc	3,32c
Urea	mg/100 ml	45,58	54,85	53,67	50,93	48,50	51,94
r	min	12,43	11,47	12,21	13,57	15,58	12,96
k ₂₀	min	10,41	10,72	12,71	24,20	20,97	13,08
a ₃₀	mm	24,00	26,84	21,04	15,15	15,72	20,81
P	ppm	849	860	807	784	831	893
Ca	ppm	1087	1074	1072	1103	1129	1131
Mg	ppm	115a	120a	138b	137b	145bc	162c
Na	ppm	300	295	338	340	341	404
K	ppm	1788	1807	1823	1865	1855	1820

a, b, c P<0,01; A, B, C P<0,05

I tenori riscontrati, relativi ai macroelementi minerali, trovano conferma nei dati riportati dai diversi Autori che hanno operato su latte di capre Saanen pure

(Piasentier *et al.*, 2000) o incrociate (Mariani *et al.*, 1987), risultando per il fosforo di 837 ± 107 ppm, per il calcio di 1099 ± 205 ppm, per il magnesio di 136 ± 22 ppm, per il sodio di 333 ± 142 ppm e per il potassio di 1826 ± 169 ppm.

Rispetto ai valori riportati in letteratura (Mariani *et al.*, 1987; Rubino, 1996), i parametri lattodinamometrici denotano un tempo di coagulazione ($13,04 \pm 7,46$ min) uguale o superiore, un tempo di rassodamento ($15,35 \pm 14,09$ min) decisamente più lungo ed una minore consistenza del coagulo ($20,59 \pm 12,71$ mm).

La produzione di latte, sia in termini quantitativi sia qualitativi, non è stata influenzata dall'ordine di parto.

Modificazioni significative della composizione chimica e dell'attitudine alla coagulazione del latte si sono invece avute in rapporto al tipo di parto: nel caso di parto gemellare si è assistito, infatti, ad una riduzione del contenuto di sostanza secca (-7%; $P < 0,05$), di proteine (-18%; $P < 0,01$), di lattosio (-8%; $P < 0,01$), di fosforo (-9%; $P < 0,05$) e di calcio (-10%; $P < 0,05$), nonché ad un aumento del tenore di urea (+29%; $P < 0,05$) e di potassio (+6%; $P < 0,01$); significativamente inferiore ($P < 0,05$) è risultata la consistenza del coagulo.

In rapporto allo stadio di lattazione (tabella 3) è stato possibile osservare che la sostanza secca ed il grasso del latte si riducono, anche se non linearmente, con il progredire della fase produttiva; i valori minimi si osservano tra il 120° ed il 150° di lattazione ($P < 0,05$).

Per contro, l'acidità titolabile è aumentata progressivamente, passando da $2,67^\circ\text{SH}/50$ ml per capre in lattazione da non più di 60 d a $3,32^\circ\text{SH}/50$ ml per quelle in produzione da oltre 180 giorni ($P < 0,01$).

Le variazioni riguardanti i macroelementi minerali hanno interessato un progressivo aumento del tenore di magnesio ($P < 0,01$).

Le differenze relative ai singoli parametri di coagulazione non hanno toccato la significatività statistica ($P > 0,05$).

- Considerazioni sulle caratteristiche del latte in rapporto alla tecnica alimentare

Dall'esame delle figure 1 e 2 è possibile osservare che:

a) - il tenore di sostanza secca del latte, che riflette la dotazione in costituenti, è risultato mediamente superiore nell'azienda 2.

Rispetto ai soggetti appartenenti all'azienda 1, quelli che hanno ricevuto la razione "unifeed", caratterizzata da un rapporto foraggi/ concentrati a favore di questi ultimi (46/54 vs 75/25) e da un apporto più elevato di amido (24,26 vs 18,19% s.s.) e minore di NDF (42,35 vs 54,66% s.s.), hanno prodotto un latte più ricco di grasso.

Normalmente, nei ruminanti, l'apporto di fibra e, soprattutto di NDF, andando ad influenzare la densità delle particelle alimentari e il tempo di ritenzione nel rumine, giocano un ruolo fondamentale nello stimolare l'attività masticatoria e le fermentazioni ruminali (Woodford e Murphy, 1988).

Tuttavia, come riportato da Morand-Fehr *et al.* (1991), le capre risultano meno sensibili rispetto alle vacche ad una deficienza di fibra nella dieta e allo stato fisico di quest'ultima.

Figura 1 - Andamento dei valori di sostanza secca, acidità titolabile e urea del latte prodotto nelle due aziende.

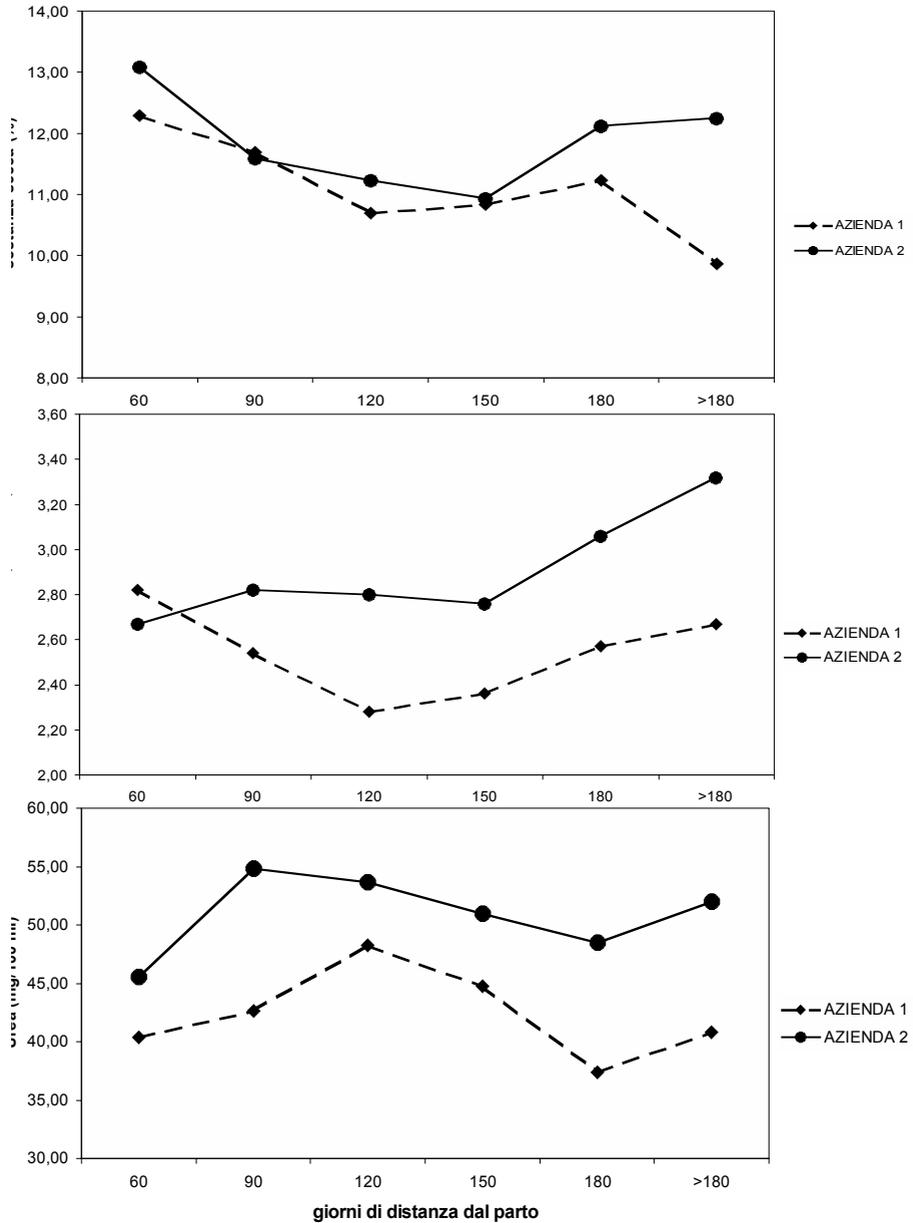
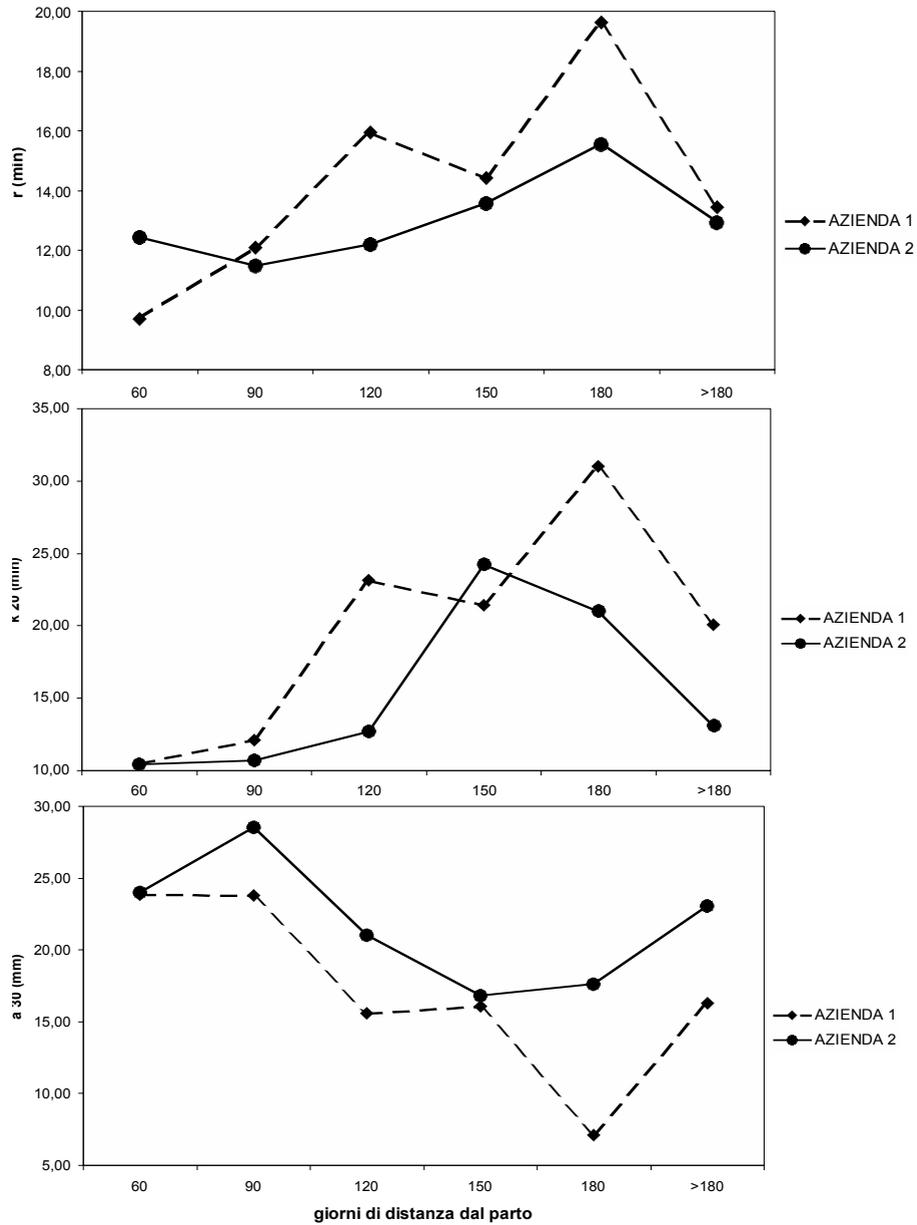


Figura 2 - Andamento dei parametri di coagulazione presamica del latte prodotto nelle due aziende.



Variazioni, in più o in meno del rapporto foraggio/concentrato, a parità di energia assunta, hanno portato ad avere moderati o non significativi cambiamenti nel tenore di grasso del latte (Mowlen *et al.*, 1985; Gihad *et al.*, 1987) .

I piccoli ruminanti, come conseguenza di un più rapido turnover ruminale, correlato al PV^{0.75}, traggono una più bassa proporzione dei loro fabbisogni energetici dagli AGV ruminali per cui la composizione del latte è influenzata soprattutto dall'apporto energetico (Van Soest, 1987).

E' stato inoltre osservato (Santini *et al.*, 1992) che nelle capre il tempo di masticazione (min/g di s.s./kg PV^{0.75}) è inversamente proporzionale al livello alimentare per cui non è da escludere che la minor assunzione di sostanza secca da parte dei soggetti appartenenti all'azienda 2, abbia favorito un maggiore tempo di masticazione, una più elevata produzione di saliva e, in definitiva, un pH ruminale più favorevole alla attività della flora batterica cellulolitica.

Il contenuto di proteina, che ha avuto un andamento simile per le due aziende, è risultato superiore nel latte delle capre che hanno ricevuto la dieta "unifed".

Gli attuali sistemi di valutazione delle proteine alimentari distinguono la frazione proteica della dieta in una componente che, degradata a livello ruminale, produce proteina microbica ed in una che sfugge alla fermentazione ruminale e raggiunge il piccolo intestino.

Le scarse ricerche condotte nella specie caprina, circa gli effetti della degradabilità proteica sulla produzione e composizione del latte, hanno portato a risultati contraddittori (Sanz Sampelayo *et al.*, 1999); nella maggioranza dei casi, comunque, le proteine totali del latte non sono state influenzate da variazioni quantitative nell'apporto proteico della dieta.

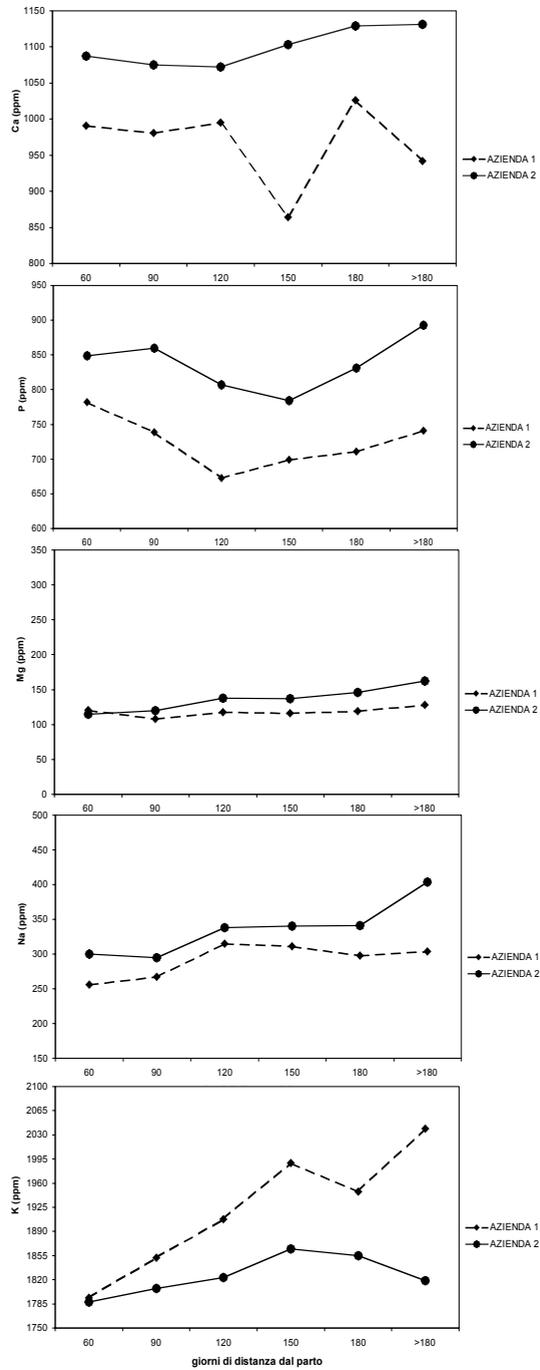
Il maggior apporto proteico fornito dalla dieta "unifed" accompagnato ad un più elevato tenore di NPN e minore di azoto solubile, potrebbero quindi non essere sufficienti a spiegare le risultanze ottenute; piuttosto, esse potrebbero dipendere dalla maggiore quantità di substrati energetici forniti;

b) - i valori di acidità titolabile rilevati per l'azienda 2, pur risultando più bassi al secondo mese di lattazione, rispetto a quelli denunciati dai soggetti appartenenti all'azienda 1, sono progressivamente aumentati, arrivando a toccare ad oltre 180 d di lattazione i 3,32 °SH/50 ml; un andamento inverso si è avuto per l'azienda 1 in cui, tra l'altro, la flessione è stata particolarmente evidente nel periodo produttivo (91°-150°d) corrispondente ai mesi cosiddetti a rischio di stress termico. Nello stesso periodo, in entrambi gli allevamenti si è assistito ad un aumento delle cellule somatiche e, limitatamente all'azienda 1 ad una riduzione del pH. Valori particolarmente bassi di acidità, accompagnati a elevati tempi di coagulazione, sono stati osservati da Fossa *et al.* (1984), su vacche da latte, durante i mesi estivi;

e) - l'andamento del tenore di urea, nel corso del ciclo di lattazione, è stato abbastanza simile tra le due aziende anche se i valori medi sono risultati più elevati per le capre appartenenti all'azienda 2;

Bocquier e Caja (2001) sostengono che nei piccoli ruminanti il componente della razione maggiormente correlato al tenore di urea del latte è il tenore di proteine della razione ($r=0,90$) piuttosto che l'apporto totale di proteine ($r=0,74$).

Figura 3 - *Andamento del tenore in minerali del latte prodotto nelle due aziende.*



Le capre dell'azienda 1, che hanno ricevuto una razione caratterizzata da un tasso di PG dell'11,40% s.s., avrebbero sfruttato l'elevata capacità di utilizzare l'urea come fonte di azoto per la biosintesi proteica nel tratto digestivo che questa specie animale ha dimostrato di possedere in presenza di diete a scarso contenuto proteico (Harmeyer e Martens, 1980).

I più elevati valori di urea registrati invece per i soggetti dell'azienda 2 possono essere legati oltre al tasso di proteina greggia della razione, che è risultato superiore di ben 6,4 unità percentuali rispetto a quello denunciato dalla dieta considerata tradizionale, ad uno squilibrato rapporto tra proteina degradabile ed energia fermentescibile poiché, come è noto, l'amido fornito dalla farina di mais che ha costituito il 50% della s.s. apportata dai concentrati, pur rappresentando una ottima fonte energetica, denota una scarsa solubilità ruminale (Tamminga *et al.*, 1990);

f) - la minore attitudine alla caseificazione del latte prodotto nell'azienda 1 riflette le caratteristiche fisico-chimiche che lo contraddistinguono; in particolare, tra le variabili che concorrono alla definizione della sua attitudine alla coagulazione presamica, si osserva, come abbiamo già avuto modo di rilevare, una bassa acidità titolabile e, come avremo modo di vedere successivamente, uno scarso tenore di fosforo;

g) - la componente minerale, pur rappresentando una frazione scarsamente rappresentata nel latte, è di estrema importanza in quanto contribuisce a determinare l'originalità del prodotto, sia in rapporto alla natura dei minerali che la costituiscono sia per la loro concentrazione. Su di essa, come riportato da Alais (2000), hanno, tuttavia, poca influenza l'alimentazione e l'ambiente.

Il contenuto in macroelementi minerali (figura 3), fatta eccezione per il tenore di potassio, risulta costantemente più elevato nell'azienda 2 con un andamento simile tra le aziende per il fosforo, il magnesio ed il sodio.

I valori più elevati di cationi bivalenti (Ca, Mg), riscontrati nel latte delle capre alimentate con dieta "unifeed", sono da ricondurre al suo maggior tenore di proteine (Alais, 2000), così come la sua acidità titolabile più elevata è probabilmente dovuta alla presenza in esso di maggiori quote di fosforo.

Mariani *et al.* (1987) riportano che i contenuti di sodio e di potassio (per i primi 2/3 del ciclo di lattazione) nel latte di capre ad elevata potenzialità produttiva, aumentano nel tempo.

Nel nostro caso, i contenuti di sodio e potassio aumentano più o meno linearmente nel latte delle capre appartenenti all'azienda 1, mentre essi evolvono in senso inverso nell'azienda 2; una possibile spiegazione di tale fenomeno potrebbe risiedere nel più elevato numero di cellule somatiche, indice di disordini secretori, riscontrato in questo allevamento.

Sorensen *et al.* (2001), sostengono che un aumento del sodio ed una riduzione del potassio, nel latte di vacche, siano da imputare ad una perdita di integrità dell'epitelio mammario.

CONCLUSIONI

Per procedere nella valorizzazione del latte caprino non si può prescindere dalla ricerca di una produzione di qualità, dalla valorizzazione commerciale dei prodotti ottenuti e da un miglioramento delle sue proprietà chimico-fisiche e tecnologiche, specie con riferimento a quello delle razze ad elevata specializzazione lattifera.

Nonostante i progressi avvenuti per tale comparto zootecnico, in questi ultimi anni, che hanno portato ad aumentare la quota di latte conferita agli impianti industriali, siamo ben lontani dal parlare di una vera e propria modernizzazione del settore.

La produzione artigianale, pur rimanendo fondamentale per la realizzazione di prodotti tipici a forte caratterizzazione territoriale, di certo non può costituire la forma migliore di commercializzazione del latte caprino e dei suoi derivati se si vuole affrontare con sufficiente forza un mercato competitivo.

La presente indagine ha permesso di rilevare che l'adozione della tecnica "unifeed", rispetto ad una tecnica alimentare di tipo semi-intensivo, consente di produrre un latte più ricco di costituenti organici ed inorganici, dotato di migliori caratteristiche tecnologiche che lo rendono più adatto alla trasformazione casearia.

Il passaggio a tecniche di allevamento più attinenti alle richieste di un prodotto di qualità dal punto di vista chimico non può comunque essere l'unico sforzo da effettuare.

Ci si riferisce, in particolare, alle caratteristiche microbiologiche che possono essere migliorate investendo, soprattutto, sulla tipologia delle strutture e sulla conoscenza delle regole fondamentali necessarie per ottenere una produzione sicura anche sotto il profilo igienico-sanitario.

RIASSUNTO

L'indagine è stata condotta presso due aziende della provincia di Alessandria, differenti per tipologia di allevamento: semi-intensivo (fieno, mangime e pascolo-AZIENDA 1) ed intensivo (unifeed- AZIENDA 2). In ciascuna azienda si è formato un gruppo di 12 capre Saanen (50 ± 19 d di lattazione); i gruppi sono risultati comparabili per casi di gemellarità e ordine di parto. Durante il periodo sottoposto a controllo produttivo (aprile - agosto) è stato effettuato il prelievo mensile degli alimenti per caratterizzare le diete dal punto di vista chimico, il rilievo della produzione individuale di latte e l'analisi periodica di campioni di latte individuali che ha consentito di individuarne i principali parametri fisico-chimici e lattodinamometrici. I dati sono stati discussi nell'ambito di ciascuna azienda in rapporto all'ordine di parto, al tipo di parto e in rapporto al ciclo produttivo.

L'adozione della tecnica "unifeed", rispetto alla tecnica alimentare di tipo semi-intensivo, ha consentito di ottenere un latte più ricco di costituenti organici (+7% di sostanza secca, + 6% di grassi, + 16% di proteine) ed inorganici (+16% di

fosforo, +14% di calcio, + 15% di magnesio e +15% di sodio) e dotato di migliori caratteristiche tecnologiche che lo rendono più adatto alla trasformazione casearia.

SUMMARY

-EFFECT OF FEEDING SYSTEM ON MILK GOAT COMPOSITION

The study was carried out on 24 Saanen goats (50± 19 days in milk), homogeneous for number of kiddens born and lactation order, reared in two herds in Piemonte (Alessandria), different in nutritional management: hay+concentrate+pasture (HERD 1) vs total mixed ration (HERD 2). During the trial (April - August), at monthly intervals, samples of feeds were taken for chemical analysis, and samples of milk for physico-chemical and lactodynamometric analysis. The results are discussed separately for each herd in relation to the lactation order, to the birth type and to the lactation phase.

The adoption of the total mixed ration improved the content of organic (dry matter: +7%, fat: +6%, protein: +16%) and inorganic matter (phosphorus: +16%, calcium: +14%, magnesium: +15%, sodium: +15%) of milk and its attitude to cheesemaking.

BIBLIOGRAFIA

Adijaoudé J.A., Morand-Fehr P., Tessier J., Schmidely Ph., Sauvant D. (2000) - Diet effect on the daily feeding behaviour, frequency and characteristics of meals in dairy goats . *Livestock Prod. Sci.*, 64, 29-37.

Alais C. (2000) - *Scienza del latte. Tecniche Nuove* , Milano, pp.739.

Aleandri M., Fagiolo A., Calderini P., Colafrancesco R., Giangolini G., Rosati R., De Michelis F. (1994) - Esperienze sul contenuto di cellule somatiche nel latte di capra. In R. Rubino (ed.) *Cellule somatiche e qualità del latte dei piccoli ruminanti*. Europa editrice, Bella (PZ), 75-82.

Allen R.J.L. (1940). The estimation of phosphorus. *Biochem. J.*, 34, 858.

Annibaldi S., Ferri G., Mora R. (1977). Nuovi orientamenti nella valutazione tecnica del latte: tipizzazione lattodinamografica. *Sci. Tecn. Latt.-cas.*, 28, 115-126.

Anon. (1963). Determinazione del grado di acidità del latte secondo Soxhlet-Henkel. *Milchwissenschaft*, 18, 520.

Anon. (1982). Analytical methods for atomic absorption spectrophotometry. Bodenseewerk Perkin-Elmer & Co GmbH, Überlingen, Germany.

ASPA (Commissione Valutazione Alimenti) (1980) - Valutazione nutrizionale degli alimenti di interesse zootecnico. Analisi chimica. Zoot. Nutr. Anim., 6, 19-34.

Bailoni L., Andrighetto I. (1995) - Effetto del rapporto foraggi:concentrati sui parametri digestivo-metabolici e sulle prestazioni produttive di capre primipare in lattazione. Zoot. Nutr. Anim., 21, 6, 333-344.

Bava L., Rapetti L., Crovetto G.M., Tamburini A., Sandrucci A., Galassi G., Succi G. (2001) - Effects of a nonforage diet on milk production, energy, and nitrogen metabolism in dairy goats throughout lactation. J. Dairy Sci., 84, 2450-2459.

Bedo S., Nikodemusz E., Nagy Z., Seregi J., Kukovics S. (1998) - Milk urea and lactose as indicators of the protein and energy status in lactating ewes and goats. Sheep and goat production in Centrall and Eastern European countries. Proceedings of the workshop, Budapest, Hungary, 29/11-2/12, 1997. REU-Technical-Series. N.50, 204-211.

Biggs D.A. (1978). Instrumental infrared estimation of fat, protein and lactose in milk: collaborative study. J. Assoc. Off. Anal. Chem., 61, 1015-1034.

Bocquier F., Caja G. (2001) - Production et composition du lait de brebis: effets de l'alimentation. Inra Prod. Anim., 14, 2, 129-140.

Brun-Bellut J., Laurent F., Vignon B. (1984) - Taux d'urée du lait, allantoiné urinaire, temoins de la nutrition azotée chez la chèvre en lactation. Can. J. Anim. Sci., 64, suppl., 281-282.

Castagnetti G.B., Chiavari C., Losi G. (1984) - Caratteristiche chimico-fisiche ed attitudine tecnologica del latte di razze caprine ad elevata potenzialità produttiva. Sci. Tecn. Latt-cas., 35, 109-115.

Colafrancesco R., Calderini P., Fagiolo A. (1998) - Tenore di cellule somatiche in rapporto alla produzione di latte in capre di razza Alpine e Saanen. Atti Soc. It. Sci. Vet., 52, 531-532.

Daccord R. (2002) - Urea content of milk - is this a useful parameter for the goat keeper?. Forum -Kleinwiederkauer- Petits Ruminants, 3, 6-11.

Fossa E., Pecorari M., Mariani P. (1984) - Variazioni stagionali dell'acidità e delle caratteristiche di coagulazione del latte. L'Industria del Latte, 20, 1, 87-97.

Furesi R., Greppi G.F. (2002) - Prospettive dell'allevamento caprino. XV Congresso Nazionale SIPAOC, Cagliari 11-14 settembre, 145-184.

Giangiaco R. (2003) - Interessanti risultati dalle ricerche sul latte di capra. Il Mondo del Latte, 6, 446-447.

Gihad E.A., El-Gallad T.T., Allam S.M., El Bedawy T.M. (1987) - Performance of Zaraibi and Damascus Lactating does fed high and low energy rations. *Ann. Zootech.*, 36, 336-337.

Harmeyer J., Martens H. (1980) - Aspects of urea metabolism in ruminants with reference to the goat. *J.Dairy Sci.*, 63, 1707-1728.

Jelinek P., Gajdusek S., Hampl A. (1994) - Correlazioni tra contenuto di cellule somatiche, composizione e proprietà del latte di capra. In R. Rubino (ed.) *Cellule somatiche e qualità del latte dei piccoli ruminanti*. Europa editrice, Bella (PZ), 350-353.

Jenness R. (1980) - Composition and characteristics of goat milk: Review 1968-1979. *J. Dairy Sci.*, 63, 1605-1630.

Krishnamoorthy U., Sniffen C.J., Stern M.D., Van Soest P.J. (1983) - Evaluation of a mathematical model of rumen digestion and an in vitro simulation of rumen proteolysis to estimate the rumen undegraded nitrogen content of feedstuffs. *Br. J. Nutr.*, 50, 555-568.

Manfredi E. (1997) - Origine génétique de la diversité des laits caprins. In G. Freund (ed.) *Intérêt nutritionnel et diététique du lait de chevre*. INRA Editions, Versailles, France, 163-168.

Mariani P., Corriani F., Fossa E., Pecorari M. (1987) - Composizione chimica, ripartizione delle frazioni azotate e caratteristiche di coagulazione del latte di capra durante un ciclo di produzione. *Sci. Tecn. Latt-cas.*, 38, 7-30.

Mariani P., Zanzucchi G., Bonatti P., Pecorari M. (1990) - Variazioni dell'acidità titolabile e delle caratteristiche di coagulazione del latte in vacche frisoni primipare e pluripare e rapporti con il contenuto di cellule somatiche. *Annali Fac. Med. Vet. di Parma*, Vol. X, 297-307.

Morand-Fehr P., Bas P., Blanchart G., Daccord R., Giger-Reverdin S., Gihad E.A., Hadjipanayiotou M., Mowlen A., Remeuf F., Sauvant D. (1991) - Influence of feeding on goat milk composition and technological characteristics. In *Goat Nutrition* P. Morand-Fehr, ed Pudoc, Wageningen, The Netherlands, 209-224.

Morand-Fehr P., Sauvant D (1988) - Alimentation des bovins ovins e caprins. In R. Jarrige (ed). INRA, Paris, 281-304.

Mowlen A., Oldham J.D., Nash S. (1985) - Effect of concentrate allowance on *ad libitum* hay consumption by lactating British Saanen goats. *Ann. Zootech.*, 34 , 474-480.

Nudda, A., Battacone, G., Usai, M.G., Mele, M., Pulina, G.(2002) - Indagine sull'effetto di alcuni fattori alimentari sul contenuto in CLA nel latte caprino. Atti XV Congresso Nazionale SIPAOC, Chia Laguna (Cagliari), 11-14 settembre, 187.

Nudda, A., Usai, M.G., Mulas, S., Pulina, G.(2003) - Utilization of extruded inseed cakes to modify fatty acid composition and increase CLA content in goat milk. Book of abstracts of the 54th annual meeting of the European Association for Animal Production 219.

Pecorari M., Mariani M.S., Calzolari M.G., Tedeschi G. (1993) – Il contenuto di urea nel latte: variazioni e rapporti con i parametri tecnologici. Sci. Tecn. Latt.-cas., 44, 144-154.

Piasentier E., Valusso R., Summer A., Mariani P. (2000) - Caratteristiche fisico-chimiche e nutrizionali del latte misto di capre Camosciata, Saanen e meticce e della caciotta. Zoot. Nutr. Anim., 26, 263-274.

Pilla A.M., Dell'Aquila S., Scardella P., Taibi L., Tasca L., (1980) - La produzione di latte di capre di razza Garganica, Maltese e Saanen. Ann. Ist. Sper. Zoot., 13, 143-148.

Remeuf F., Lenoir J., Duby C. (1989) - Etude des relations entre le caractéristiques physico-chimiques des laits de chèvre et leur aptitude à la coagulation par la présure. Le Lait, 69, 499-518.

Rubino R. (1996) - L'allevamento caprino. ASSONAPA, Roma.

Santini F.J., Lu C.D., Potchoiba M.J., Fernandez J.M., Coleman S.W. (1992) - Dietary fiber and milk yield, mastication digestion and the rate of passage in goats fed alfalfa hay. J. Dairy Sci., 75, 209-219.

Sanz Sampelayo M.R., Perez M.L., Gil Extremera F., Boza J.J., Boza J. (1999) - Use of different dietary protein sources for lactating goats: milk production and composition as functions of protein degradability and amino acid composition. J. Dairy Sci., 82, 555-565.

Savini, E. (1946). Analisi del latte e dei latticini. Ed. Hoepli, Milano.

Scatassa M.L., Todaro M., Cascio M.A., Randazzo A.M., Caracappa S. (2002) - Indagine conoscitiva sulla qualità del latte caprino prodotto in Sicilia. Atti Soc. It. Sci.Vet., 56, 463-464.

Schmidely P., Lloret-Pujol M., Bas P., Rouzeau A., Sauvant D. (1999) - Influence of feed intake and source of dietary carbohydrate on milk yield and composition, nitrogen balance, and plasma constituents of lactating goats, J. Dairy Sci., 82, 747-755.

Schmidt-Madsen P. (1975). Fluoro-opto-electronic cell-counting on milk. *J. Dairy Res.*, 42, 227-239.

Sniffen C.J., O'Connor J.D., Van Soest P.J., Fox D.G., Russel J.B. (1992) - A Net Carbohydrate and Protein System for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. *J. Anim. Sci.*, 53, 71-80.

Sorensen A., Muir D.D., Knight C.H. (2001) - Thrice-daily milking throughout lactation maintains epithelial integrity and thereby improves milk protein quality. *J. Dairy Res.*, 68, 15-25.

Su A.K., Chen S.Y., Yan S.S., Hsieh R.C. (2002) - Effects of computerized concentrate feeding system and total mixed ration system on the lactating performance of dairy goats. *J. Taiwan Livestock Res.*, 35, 29-37.

Tamminga S., Van Vuuren A.M., Van Der Kolen C.J., Ketalaar R.S., Van Der Togt P.L. (1990) - Ruminal behavior of structural carbohydrates, non structural carbohydrates and crude protein from concentrate ingredients in dairy cows. *Neth. J. Agric. Sci.*, 38, 513-526.

Van Soest P.J., Robertson J.B., Lewis B.A. (1991) - Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.*, 74, 3583-3598.

Van Soest, P.J. (1987) - Interactions of feeding behaviour and forage composition. *Proc. IV Int. Conf. Goats, Brasilia, Brazil, Vol.II*, 971-987.

Woodford S.T., Murphy M.R. (1988) - Effect of forage physical form on chewing activity, dry matter intake, and rumen function of dairy cows in early lactation. *J. Dairy Sci.*, 71, 674-686.

L'IMPIEGO DEI SEMI DI PISELLO ESPANSI (*Pisum sativum L.*) NELL'ALIMENTAZIONE DEL CONIGLIO DA CARNE.¹

Bonomi A., Bonomi B.M., Quarantelli A., Righi F.

Dipartimento di Produzioni Animali, Biotecnologie Veterinarie, Qualità e Sicurezza degli Alimenti.

Sezione di Scienza degli Alimenti e della Nutrizione.

Facoltà di Medicina Veterinaria - Università degli Studi di Parma.

INTRODUZIONE

In una precedente memoria (1) abbiamo reso noto i risultati ottenuti da una ricerca da noi condotta con lo scopo di valutare la possibilità di impiego, nell'alimentazione dei conigli da carne della farina di semi di pisello (*Pisum sativum L.*).

La medesima farina prevista nei mangimi alle dosi del 5% e del 10%, in sostituzione parziale della farina di estrazione di soia e della farina di mais, non ha determinato modificazioni nello stato di salute degli animali, non ha influenzato negativamente l'appetibilità della razione e non ha agito sfavorevolmente sul metabolismo dei soggetti.

L'accrescimento ponderale, gli indici di conversione e le rese di macellazione non sono stati condizionati in misura significativa dal trattamento in corrispondenza di ciascuno dei tre dosaggi presi in considerazione.

Le nostre ricerche sono poi continuate andando ad interessare, sempre sui conigli, l'utilizzazione dei semi di pisello previamente sottoposti a trattamento di espansione.

All'uopo abbiamo impiegato una apparecchiatura "jet- sploder", raggiungendo temperature che a livello del ciclone d'aria e all'uscita dal laminatoio hanno raggiunto, rispettivamente, quote pari a 280° e a 120° C; il trattamento si è rivelato efficace nei confronti della inattivazione dei fattori antinutrizionali in corrispondenza di un tempo di cottura di due minuti.

I risultati ottenuti a seguito di questa seconda sperimentazione sono qui di seguito esposti e commentati.

MATERIALE E METODI

La prova ha interessato 150 conigli di razza Nuova Zelanda dell'età di circa 30 giorni, tutti maschi appena svezzati e distinti in tre gruppi di 50 soggetti ciascuno, contrassegnati con i numeri dall'1 al 3.

¹ Ricerche effettuate con il contributo finanziario del M.U.R.S.T. (quota 60%). Indirizzo per corrispondenza: Prof. Alberto Bonomi - Sezione di Scienza degli Alimenti e della Nutrizione - Via del Taglio, 8 - 43100 PARMA. Tel. 0521 032620; fax 0521 032622; e-mail: alberto.bonomi@unipr.it

L'allevamento, praticato in gabbie collettive (10 soggetti per ogni gabbia), in condizioni di ambiente uniformi per i vari gruppi, ha avuto la durata di 60 giorni.

I soggetti del gruppo 1, considerato di "controllo", hanno ricevuto, durante il primo periodo (dal 30° al 60° giorno) ed il secondo (dal 61° al 90° giorno) due mangimi completi, la cui composizione è raccolta nelle tabelle nn. 1 e 2.

Per l'alimentazione dei gruppi 2 e 3, considerati "di esperimento", si è provveduto con gli stessi mangimi addizionati però di semi di pisello espansi alle rispettive dosi del 5% e del 10% in sostituzione parziale della farina di estrazione di soia e della farina di mais, sulla base di una formulazione che ha subito i necessari aggiustamenti atti a consentire che i medesimi mangimi risultassero, nei confronti di quello di "controllo", isoproteici, isominerali ed isoenergetici.

Nella tabella n. 3 sono riportati i risultati dell'analisi chimica effettuata sui mangimi di 1° e di 2° periodo. La determinazione del contenuto in principi immediati è stata effettuata secondo la tecnica consigliata dalla C.V.A. dell'ASPA (2).

Nel corso ed al termine della prova istituita sono stati effettuati i seguenti rilievi:

- a) - il controllo giornaliero dello stato di salute degli animali;
- b) - la verifica dell'incremento ponderale individuale e del consumo di alimenti;
- c) - la determinazione di alcuni parametri ematici.

Sui campioni di sangue, prelevati da 10 soggetti scelti nell'ambito di ciascun gruppo, sono stati determinati i contenuti di proteine totali, di albumina, di globuline, di glucosio, di fosfatasi alcalina, di bilirubina totale, di colesterolo totale, di trigliceridi, di fosfolipidi, di lipidi totali, di lipoproteine α e β , con kit della Boehringer Italia;

- d) - il controllo della resa di macellazione e la valutazione delle carcasse alla spolpatura;
- e) - l'analisi chimico-bromatologica della carne secondo la metodica A.O.A.C. (3);
- f) - la determinazione della digeribilità pepsinica "in vitro" della carne, secondo la ben nota tecnica di Sjollema - Wedemeyer;
- g) - la valutazione della tenerezza della carne, secondo il procedimento proposto da Schömberg e Lochmann, elaborato da Krüger (4) e basato sull'impiego della tripsina, adottando gli accorgimenti resi noti da uno di noi in altra memoria (5), alla quale si rimanda;

I dati ottenuti a seguito delle indagini effettuate sono stati sottoposti ad analisi della varianza secondo il metodo dei minimi quadrati, adottando il seguente modello:

$$Y_{ij} = \mu + a_i + e_{ij}$$

dove

Y_{ij} = singola osservazione;

μ = media generale;

a_i = effetto della dose ($i = 1, \dots, 3$);
 e_{ij} = effetto casuale residuo.

RISULTATI E DISCUSSIONE

A) - Lo stato di salute.

I conigli che hanno ricevuto il mangime contenente di semi di pisello espansi alle dosi del 5% e del 10% sono stati caratterizzati da uno stato di salute buono nel corso dell'intero periodo di allevamento. Parimenti ai controlli il sensorio e le grandi funzioni organiche hanno manifestato uno svolgimento del tutto regolare.

Il tasso di mortalità è risultato basso, avendo oscillato fra il 2% e il 4%.

B) - L'incremento ponderale ed il consumo di alimenti.

I conigli sono stati pesati individualmente al 30°, al 60° e al 90° giorno di età.

Nella tabella n. 4 sono riportati i risultati ottenuti a seguito dell'elaborazione matematico-statistica condotta sui dati primitivi.

Dall'esame della tabella appare evidente che gli animali alimentati con mangimi in cui hanno trovato posto i semi di pisello espansi alle dosi del 5% (gruppo 2) e del 10% (gruppo 3) sono stati caratterizzati da una velocità di crescita superiore nei confronti dei controlli (gruppo 1) sulla base di differenze significative ($P < 0,05$) pari, rispettivamente e a fine ciclo, al 47,00% e al 95,00%. Significativa ($P < 0,05$) anche la differenza fra i gruppi 2 e 3.

Nella tabella n. 5 sono raccolti i valori relativi ai consumi medi di mangime occorsi per la produzione di 1Kg di peso vivo.

Gli stessi valori consentono di osservare che i conigli di esperimento (gruppi 2 e 3) hanno necessitato di una quantità di alimento inferiore a paragone con i controlli (gruppo 1) in virtù di differenze significative ($P < 0,05$), calcolate per l'intero periodo di allevamento, pari, nell'ordine, al 8,00% e al 18,00%. Anche la differenza fra i gruppi 2 e 3 ha trovato conferma ($P < 0,05$).

C) - I parametri ematici.

Le indagini condotte sui campioni di sangue prelevati al 30°, al 60° e al 90° giorno di età, hanno fornito le risultanze riportate nelle tabelle nn. 6 e 7, risultanze, in base alle quali è possibile accertare che:

- i contenuti di proteine totali, di albumina e di globuline sono rimasti entro i limiti della normalità senza manifestare variazioni ($P > 0,05$) riferibili all'impiego nel mangime dei semi di pisello espansi alle dosi del 5% e del 10%;

- il tenore di glucosio è stato caratterizzato da valori più elevati nei conigli che hanno ricevuto i semi di pisello espansi alle dosi del 5% (gruppo 2) e del 10% di mangime (gruppo 3) sulla base di differenze significative ($P < 0,05$) nei confronti de

controlli (gruppo 1) pari, rispettivamente, al 18,50% e al 34,00%. Pure significativa ($P < 0,05$) la differenza fra i gruppi 2 e 3;

- i tassi di bilirubina totale, di colesterolo totale, di trigliceridi, di fosfatasi alcalina, di fosfolipidi e di lipidi totali sono risultati più bassi nei conigli che hanno assunto mangime contenente i semi di pisello espansi alle dosi del 5% e del 10%, in virtù però di differenze, nei confronti dei controlli, che non sono significative ($P > 0,05$);

- le lipoproteine α e β , determinate nel sangue dei conigli che sono stati trattati con i semi di pisello espansi alle dosi del 5% e del 10%, hanno messo in luce valori rispettivamente più alti e più bassi a paragone con il lipidogramma dei controlli, sulla base di differenze significative ($P < 0,05$) pari, nell'ordine, al 14,00% e al 19,50% per le α , al 23,00% e al 51,00% per le β . Pure significativa ($P < 0,05$) la differenza fra i gruppi 2 e 3.

D) - Le rese di macellazione.

Su 20 conigli, scelti nell'ambito di ciascun gruppo e sacrificati dopo un periodo di digiuno di 12 ore, sono state controllate le rese in carcassa, quarti anteriori e posteriori, regione lombare, carne, grasso di deposito, ossa, testa e collo, pelle, stinchi, zampe e coda, fegato, complesso "milza, cuore, polmoni, reni e testicoli", stomaco e intestino.

Nella tabella n. 8 sono compendiate i risultati ottenuti, il cui esame consente di rilevare che l'impiego dei semi di pisello espansi alle dosi del 5% (gruppo 2) e del 10% (gruppo 3) di mangime ha esercitato una azione favorevole ($P < 0,05$) sulle rese in carcassa (risp. 10,00% e 21,00%), in quarti anteriori (risp. 10,00% e 18,00%), in quarti posteriori (risp. 7,00% e 12,00%), in lombo (risp. 5,00% e 9,00%) e in carne (risp. 11,00% e 22,00%). Significative ($P < 0,05$) anche le differenze fra i gruppi 2 e 3.

Per tutti gli altri parametri le differenze fra i controlli e i soggetti di esperimento non sono risultate significative ($P > 0,05$).

E) - La composizione chimico-bromatologica della carne.

I campioni di carne sono stati sottoposti, previa omogeneizzazione, a disidratazione e successivamente ridotti in polvere prima di procedere alle varie indagini di ordine chimico. E' stata effettuata la determinazione del contenuto in acqua, in ceneri gregge, in proteina greggia e in grasso greggio.

I risultati ottenuti, raccolti nella tabella n. 9, mettono in luce che la composizione chimico-bromatologica della carne non è stata oggetto di modificazioni ($P < 0,05$) riferibili ai particolari regimi alimentari adottati.

F) - La digeribilità pepsinica "in vitro" della carne.

Sulla carne essiccata e sgrassata, è stata determinata la digeribilità, adottando il metodo proposto da Sjollema-Wedemeyer.

I valori relativi alla proteina totale, digeribile, indigerita nonché al coefficiente

di digeribilità, sono riportati nella tabella n. 10. Gli stessi valori pongono in evidenza che la carne dei conigli alimentati con mangime contenente i semi di pisello espansi alle dosi del 5% e del 10% è caratterizzata da una digeribilità statisticamente non diversa da quella della carne dei controlli ($P>0,05$).

Il coefficiente di digeribilità delle proteine è stato infatti caratterizzato da differenze non significative nel confronto fra i soggetti di controllo e quelli di esperimento.

G) - La tenerezza della carne.

Per la valutazione della tenerezza della carne di “petto” abbiamo utilizzato il procedimento messo a punto da Schönberg e Lochmann, elaborato da Krüger, basato sull’impiego della tripsina. Con il medesimo procedimento si opera su carne essiccata e sgrassata che viene sottoposta a digestione enzimatica per 96 ore. Al termine di tale periodo la sostanza indigerita è rappresentata quasi totalmente dal tessuto connettivo.

Nella tabella n. 11 sono riportate le risultanze ottenute, le quali permettono di rilevare che la carne dei conigli alimentati con mangimi, in cui hanno trovato posto i semi di pisello espansi alle dosi del 5% e del 10%, denuncia una tenerezza pressoché analoga a quella dei controlli.

Le differenze fra i contenuti di sostanza indigerita non sono infatti risultate significative ($P>0,05$).

CONCLUSIONI

I risultati ottenuti a seguito delle nostre indagini autorizzano la formulazione delle seguenti considerazioni e conclusioni:

1) - i semi di pisello espansi (*Pisum sativum* L.), aggiunti ai mangimi per i conigli da carne alle dosi del 5% e del 10% in parziale sostituzione della farina di estrazione di soia e della farina di mais, hanno influenzato positivamente l’accrescimento ponderale soprattutto in corrispondenza del dosaggio più elevato. Alla fine del ciclo produttivo i soggetti così trattati sono risultati più pesanti rispetto ai controlli in ragione, nell’ordine, del 4,7% e del 9,5%, con un indice di conversione dell’alimento inferiore del 8,00% e del 18,00%;

2) – sempre agli stessi dosaggi i semi di pisello espansi hanno condizionato favorevolmente le rese di macellazione con riferimento alle rese in carcassa (risp. 10,00% e 21,00%), in quarti anteriori (risp. 10,00% e 18,00%), in quarti posteriori (risp. 7,00% e 12,00%), in lombo (risp. 5,00% e 9,00%) e in carne (risp. 11,00% e 22,00%). Significative anche le differenze fra i gruppi 2 e 3;

3) – i semi di pisello espansi non hanno determinato modificazioni nello stato di salute degli animali e in alcune caratteristiche qualitative della carne.

Devesi pertanto ammettere che i semi di pisello espansi sono in grado di migliorare l’efficienza produttiva dei conigli da carne sulla base di risultanze decisamente superiori nei confronti della farina dei semi di pisello (1).

Circa il dosaggio le nostre indagini hanno messo in evidenza che i risultati più favorevoli si ottengono utilizzando quote oscillanti attorno al 10%.

Dal punto di vista economico i semi di pisello espansi rappresentano un alimento molto interessante in quanto capace di favorire una riduzione dei costi di produzione a motivo della possibilità di integrazione e di sostituzione che esso garantisce.

Dal punto di vista biologico, i risultati ottenuti sono suscettibili di interpretazione alla luce dei reperti forniti dai rilievi effettuati a livello ematico, reperti che dimostrano il ruolo sostenuto dai semi di pisello espansi in seno ai metabolismi glucidico e lipidico.

Nota – Il piano, l'esecuzione delle indagini e le conclusioni spettano in parti uguali agli Autori (A. Bonomi).

RIASSUNTO

Gli Autori riferiscono i risultati ottenuti a seguito di ricerche condotte con la finalità di valutare la possibilità di impiego nell'alimentazione dei conigli da carne dei semi di pisello espansi (*Pisum sativum L.*).

Gli stessi semi addizionati ai mangimi alle dosi del 5% e del 10% in sostituzione parziale della farina di estrazione di soia e della farina di mais non modificano lo stato di salute degli animali mentre influenzano positivamente l'accrescimento ponderale (risp. 47,00% e 95,00%), l'utilizzazione dell'alimento (risp. 8,00% e 18,00%), le rese in carcassa (risp. 10,00% e 21,00%), in quarti anteriori (risp. 10,00% e 18,00%), in quarti posteriori (risp. 7,00% e 12,00%), in lombo (risp. 5,00% e 9,00%) e in carne (risp. 11,00% e 22,00%).

Gli Autori concludono affermando che i semi di pisello espansi rappresentano un alimento interessante dal punto di vista economico per le possibilità di integrazione e di sostituzione che essi offrono.

Circa il dosaggio essi propongono quote oscillanti attorno al 10% di mangime.

Parole chiave: semi di pisello espansi, integrazione razione, conigli da carne.

Summary

- The use of pea (*Pisum sativum L.*) after a popping treatment in the feeding of rabbits.

The Authors report on the results obtained from studies concerning the use of pea after a popping treatment, in the feeding of rabbits.

Added at the doses of 5% and 10% of mixed feeds in partial substitution of soybean meal and maize meal, does not effects the state of health, has improved the weight gain (resp. 4,7% and 9,5%), the feed utilisation (resp. 8,00% and 18,00%), the carcass (resp. 10,00% and 21,00%) and the flesh (resp. 11,00% and 22,00%).

Key words: pea after a popping treatment, ration integration, rabbits.

BIBLIOGRAFIA

- 1) BONOMI A., BONOMI B.M., QUARANTELLI A. (2003) - L'impiego della farina di semi di pisello (*Pisum sativum* L.) nell'alimentazione del coniglio da carne. *Annali Fac. Med. Vet. Univ. Parma*, vol. XXIII.
- 2) A.S.P.A. - Commissione Valutazione Alimenti (1980) - Valutazione degli alimenti di interesse zootecnico. 1. Analisi chimica. *Zoot. Nutr. Anim.*, 6, 1, 19-31.
- 3) A.O.A.C. (1984) - Official Methods of Analysis, Washington D.C., Association of Official Analytical Chemists, 14th ed.
- 4) KRUGER H. (1965) – “Ein Beitrag zur Obiektiven Bestimmung der Fleischqualitat von Jungmastrindern”. Verlag Paul Parey, Hamburg und Berlin.
- 5) BONOMI A. (1975) – “Caratteristiche chimico-biologiche della carne di selvaggina in allevamento industriale”. *Avicoltura*, 44, 3, 67.

Tab. 1 - Formulazione dei mangimi di 1° periodo.

Gruppi		1	2	3
Farina di mais	Kg	25.00	22.00	19.00
Farina di orzo	“	10.00	10.00	10.00
Farina di soia (estr. 50% prot.)	“	10.00	8.00	6.00
Farina di girasole (estr. 50% prot.)	“	4.00	4.00	4.00
Farina di pesce	“	5.00	5.00	5.00
Farina di medica integrale	“	10.00	10.00	10.00
Farina di medica dis.	“	5.00	5.00	5.00
Semi di pisello espansi	“	-	5.00	10.00
Crusca di frumento	“	20.00	20.00	20.00
Polpe secche di bietola	“	5.00	5.00	5.00
Melasso di canna	“	3.00	3.00	3.00
Carbonato di calcio	“	1.00	1.00	1.00
Fosfato bicalcico	“	1.00	1.00	1.00
Cloruro di sodio	“	0.50	0.50	0.50
Complesso vit. e oligomin (1)	“	0.50	0.50	0.50

(1) - Composizione del complesso vitaminico e oligominerale (per 1 kg) – Vit A: U.I. 4.000.000; Vit. D3: U.I. 400.000; Vit. E: mg 5.000; Vit. B1: mg 400; Vit. B2: mg 800; Vit. B6: mg 500; Vit. B12: mg 4; Vit. PP: mg 4.500; Ac. Pantotenico: mg 3.000; Ac. Folico: mg 300; Colina cloruro: mg 100.000; DL-metionina: mg 50.000; Co: mg 150; Fe: mg 5.000; I: mg 200; Mn: mg 15.000; Cu: mg 200; Zn: mg 10.000; Se: mg 20; supporto vegetale q.b. a g 1000.

Tab. 2 - *Formulazione dei mangimi di 2° periodo.*

Gruppi		1	2	3
Farina di mais	Kg	35.00	32.00	29.00
Farina di orzo	“	10.00	10.00	10.00
Farina di soia (estr. 50% prot.)	“	10.00	8.00	6.00
Farina di girasole (estr. 50% prot.)	“	4.00	4.00	4.00
Farina di pesce	“	2.00	2.00	2.00
Farina di medica integrale	“	8.00	8.00	8.00
Farina di medica dis.	“	5.00	5.00	5.00
Semi di pisello espansi	“	-	5.00	10.00
Crusca di frumento	“	15.00	15.00	15.00
Polpe secche di bietola	“	5.00	5.00	5.00
Melasso di canna	“	3.00	3.00	3.00
Carbonato di calcio	“	1.00	1.00	1.00
Fosfato bicalcico	“	1.00	1.00	1.00
Cloruro di sodio	“	0.50	0.50	0.50
Complesso vit. e oligomin (1)	“	0.50	0.50	0.50

Tab. 3 - *Analisi chimica degli alimenti impiegati nel corso della prova.*

		Semi di pisello espansi	Mangime (periodi)	
			1°	2°
Acqua	%	11.00	11.50	12.10
Ceneri gregge	“	3.40	6.20	5.90
Proteina greggia	“	28.10	18.00	16.00
Sostanze grasse gregge	“	2.30	4.70	4.30
Cellulosa greggia	“	4.80	11.50	10.50
Estrattivi inazotati	“	50.40	48.10	51.20

Tab. 4 - *Accrescimento ponderale (valori medi ± D.S.).*

Gruppi		1	2	3
Soggetti	n.	50	50	50
Durata della prova	d	60	60	60
Pesi medi iniziali (30° d)	g	745,30±28,41	758,60±30,16	761,30±32,23
Pesi medi al 60° d	g	1.650,10a±65,15	1.730,42b±62,12	1.840,12c±64,30
Pesi medi al 90° d	g	2.740,16a±86,13	2.870,20b±87,20	3.000,10c±87,35

- a, b, c diversi per $P < 0,05$.

Tab. 5 - Indice di conversione - Kg di mangime/Kg p.v. (valori medi \pm D.S.).

Gruppi		1	2	3
30° - 60° d	Kg	3.76c \pm 0.16	3.50b \pm 0.17	3.16a \pm 0.19
61° - 90° d	“	4.50c \pm 0.25	4.10b \pm 0.27	3.65a \pm 0.28
30° - 90° d	“	4.13c \pm 0.20	3.80b \pm 0.18	3.40a \pm 0.17

- a, b, c diversi per P<0,05.

Tab. 6 - Parametri ematici (valori medi \pm D.S.).

Gruppi		1	2	3
Proteine totali	g/100 ml	6.40 \pm 0.16	6.47 \pm 0.17	6.51 \pm 0.15
Albumina	“	2.30 \pm 0.13	2.35 \pm 0.12	2.39 \pm 0.13
Globuline	“	4.20 \pm 0.18	4.27 \pm 0.19	4.31 \pm 0.19
Glucosio	mg/100 ml	93.40a \pm 9.16	110.51b \pm 9.30	125.11c \pm 9.42
Colesterolo tot.	“	125.30 \pm 11.23	120.16 \pm 11.35	117.12 \pm 11.40
Trigliceridi	“	122.16 \pm 14.30	118.42 \pm 14.60	115.11 \pm 14.65
Bilirubina tot.	“	1.50 \pm 0.17	1.46 \pm 0.16	1.42 \pm 0.15
Fosfolipidi	“	102.13 \pm 9.00	100.00 \pm 9.15	95.60 \pm 9.18
Fosfatasi alcalina	mU/ml	85.34 \pm 10.00	80.11 \pm 10.30	78.19 \pm 10.27

- a, b, c diversi per P<0,05.

Tab. 7 - Parametri ematici (valori medi \pm D.S.).

Gruppi		1	2	3
Lipidi totali	mg/100 ml	450.18 \pm 12.16	444.30 \pm 12.00	442.11 \pm 12.13
Lipoproteine α	%	35.32a \pm 11.13	50.16b \pm 11.00	68.23c \pm 11.05
Lipoproteine β	%	64.68c \pm 11.13	49.84b \pm 11.00	31.77a \pm 11.05
Rapporto β/α		1.83c \pm 0.38	0.99b \pm 0.40	0.46a \pm 0.41

- a, b, c diversi per P<0,05.

Tab. 8 - *Rilievi di macellazione a caldo (% p.v. - valori medi \pm D.S.).*

Gruppi	1	2	3
Carcassa	44.10a \pm 1.30	48.60b \pm 1.25	53.30c \pm 1.32
Quarti anteriori	12.60a \pm 0.45	13.85b \pm 0.48	14.90c \pm 0.50
Quarti posteriori	16.40a \pm 0.52	17.50b \pm 0.56	18.41c \pm 0.61
Lombo	16.05a \pm 0.43	16.72b \pm 0.45	17.50c \pm 0.48
Carne	30.20a \pm 1.00	33.50b \pm 1.10	36.60c \pm 1.13
Grasso	3.35 \pm 0.60	3.10 \pm 0.63	2.90 \pm 0.61
Ossa	12.00 \pm 0.68	11.80 \pm 0.71	11.68 \pm 0.73
Testa e collo	11.50 \pm 0.71	11.10 \pm 0.75	11.00 \pm 0.78
Pelle	12.70 \pm 0.46	12.58 \pm 0.48	12.50 \pm 0.45
Stinchi, zampe e coda	3.30 \pm 0.38	3.10 \pm 0.42	3.00 \pm 0.43
Fegato	3.31 \pm 0.30	3.38 \pm 0.35	3.45 \pm 0.38
Milza, cuore, polmoni, reni e testicoli	3.12 \pm 0.28	3.00 \pm 0.30	2.95 \pm 0.32
Stomaco pieno	4.70 \pm 0.36	4.52 \pm 0.38	4.50 \pm 0.40
Intestino pieno	12.35 \pm 0.38	12.10 \pm 0.45	12.00 \pm 0.44

- a, b, c diversi per $P < 0,05$.

Tab. 9 - *Composizione chimico-bromatologica della carne (valori medi \pm D.S.).*

Gruppi		1	2	3
Acqua	%	72.10 \pm 0.46	72.21 \pm 0.48	72.30 \pm 0.51
Ceneri gregge	“	1.37 \pm 0.15	1.30 \pm 0.16	1.27 \pm 0.14
Proteina greggia	“	22.31 \pm 0.49	22.50 \pm 0.50	22.65 \pm 0.52
Sostanze grasse gregge	“	3.15 \pm 0.31	3.00 \pm 0.34	2.95 \pm 0.36

Tab. 10 - *Digeribilità pepsinica "in vitro" della carne (valori medi \pm D.S.).*

Gruppi		1	2	3
Proteine totali	%	22.31 \pm 0.49	22.50 \pm 0.50	22.65 \pm 0.52
Proteine indigerite	"	3.20 \pm 0.28	3.10 \pm 0.32	2.97 \pm 0.34
Proteine digeribili	"	19.11 \pm 0.70	19.40 \pm 0.72	19.68 \pm 0.74
Coefficiente di digeribilità	"	85.65 \pm 1.42	86.22 \pm 1.41	86.90 \pm 1.39

Tab. 11 - *Digestione tripsinica "in vitro" della carne. Sostanza indigerita espressa in % sulla carne essiccata e sgrassata (valori medi \pm D.S.).*

Gruppi	Sostanza indigerita
1	3.10 \pm 0.46
2	2.90 \pm 0.48
3	2.81 \pm 0.51

L'ASSUNZIONE DI SOSTANZA SECCA NELLA VACCA DA LATTE: PARAMETRI CORRELATI, REGOLAZIONE FISICA E CHIMICA¹

Righi F., Quarantelli A., Bonomi A., Renzi M.

INTRODUZIONE

Ai fini del miglioramento delle performance e dello stato di salute delle bovine da latte, la conoscenza dei fattori in grado di influenzarne l'assunzione di sostanza secca risulta di notevole importanza sotto diversi punti di vista. Dalla quantità di sostanza secca ingerita dipendono due importanti fattori alimentari determinanti la produttività e la sanità dell'allevamento: l'assunzione di energia, primo elemento limitante la produzione di latte nelle bovine ad alta produzione e l'input di tutti gli altri nutrienti, inclusi vitamine e minerali, importantissimi dal punto di vista metabolico e quindi indispensabili per un corretto funzionamento dell'organismo. È chiaro quindi come, almeno durante la fase di lattazione, risulti indispensabile massimizzare l'assunzione di alimento e soprattutto della sua componente energetica e nutritiva. Da un punto di vista pratico, la conoscenza dei fattori che influenzano l'assunzione di sostanza secca consente di modificare la razione in funzione delle variazioni della ingestione collegate allo stato produttivo-riproduttivo, alle condizioni corporee ed allo stato metabolico dell'animale nonché alle condizioni climatiche ed ambientali. Inoltre, la comprensione di questi fattori consente diagnosi aziendali e pianificazioni economiche più precise (Dwight, 1998). Dal punto di vista tecnico-scientifico, sulla base di queste conoscenze è possibile la messa a punto di strategie atte a minimizzare e idealmente a prevenire i cali di assunzione ed ottenere modelli matematici in grado di fornire una predizione sempre più accurata della assunzione di sostanza secca; tale approccio è funzionale ad una razionale gestione alimentare della mandria e dei diversi gruppi di animali.

Numerosi parametri zootecnici sono stati messi in relazione con le variazioni della assunzione di sostanza secca. Tuttavia essi non sono i determinanti primi delle modificazioni del comportamento alimentare. Vari fattori, genericamente classificabili, secondo Allen (2000), come "fisici" e "chimici" sono stati dimostrati influenzare l'assunzione di sostanza secca nella bovina da latte. Molti di essi, soprattutto se di ordine chimico, sono estremamente complessi e tutt'ora in fase di studio.

In tale contesto l'obiettivo di questo lavoro è quello di analizzare i principali parametri zootecnici cui sono state collegate variazioni della assunzione di sostanza

¹ Dipartimento di Produzioni Animali, Biotecnologie Veterinarie, Qualità e Sicurezza degli Alimenti. Sezione di Scienza degli Alimenti e della Nutrizione. Facoltà di Medicina Veterinaria - Università degli Studi di Parma.

secca e di descrivere i più importanti fattori di natura fisica e chimica che regolano tali variazioni e che giustificano le correlazioni osservate in termini fisiologici.

PARAMETRI CORRELATI

Lo studio meta-analitico di dati derivanti da ricerche condotte durante il periodo di transizione della vacca da latte (Haiyrlı et al., 2002) ha messo in evidenza come le variazioni della assunzione di sostanza secca dipendano dal giorno di gestazione nella misura del 56,1%, da fattori legati agli animali per il 19,7% (10,0% per l'ordine di lattazione e 9,7% per il BCS) e da fattori alimentari per il 24,2% (15,3 per l'NDF; 6,4% per EE; 1,3% per RUP; e 1,2% per RDP, rispettivamente). A questi sono da aggiungere i fattori ambientali, che, come è noto, sono molto variabili.

Fase del ciclo produttivo-riproduttivo

Comprendendo con il termine ciclo produttivo-riproduttivo sia la fase di lattazione annuale alternata alla fase di asciutta ed al parto sia l'intera carriera produttiva della bovina, possono essere fatte alcune considerazioni in merito ai giorni di gestazione (relativamente alla fase di asciutta), ai giorni di lattazione ed al numero di lattazioni.

Giorni di gestazione: nella bovina in asciutta, l'assunzione di sostanza secca decresce di circa il 30% durante le ultime tre settimane della gestazione; a questa riduzione fa seguito un ulteriore declino prossimo al 90% durante l'ultima settimana prima del parto (Haiyrlı et al., 2002).

Giorni di lattazione: nella prima parte della lattazione le vacche pluripare e primipare fanno registrare una assunzione di sostanza secca crescente che raggiunge il massimo rispettivamente circa 6 e 10 settimane dopo il picco di lattazione, individuato in base alla produzione di latte corretta per il contenuto in grasso (FCM). La massima assunzione di sostanza secca è pertanto registrabile intorno ai 168 giorni di lattazione per le bovine primipare, mentre per le bovine pluripare è leggermente più anticipato, attestandosi intorno ai 105 giorni (Dwight, 1998).

Numero di lattazioni: l'assunzione di sostanza secca è mediamente più elevata nelle vacche rispetto alle manze. Inoltre, nelle manze l'assunzione di sostanza secca durante le prime 3 settimane pre-parto è scarsa e relativamente costante fino al momento del parto. Nel caso delle vacche la flessione nelle ultime 3 settimane pre-parto si fa progressivamente più marcata, probabilmente in conseguenza di una maggiore riduzione del bilancio energetico (Haiyrlı et al., 2002).

Caratteristiche dell'animale

Produttività: una elevata ingestione di sostanza secca si verifica come risultato della notevole domanda di nutrienti necessari per far fronte alla produzione del latte. Tuttavia, come precedentemente descritto, le variazioni della ingestione

nella vacca da latte non si verificano sempre contestualmente alla incrementata produzione ma risultano in genere ritardate e danno origine al fenomeno del bilancio energetico negativo (Dwight, 1998).

Dimensioni, peso corporeo e variazioni di peso corporeo: l'assunzione di sostanza secca aumenta con l'incremento del peso corporeo (NRC Dairy, 2001). Il peso corporeo è una delle variabili più importanti nelle equazioni formulate per la predizione della assunzione di sostanza secca e più correttamente, per indicare la quantità di alimento necessaria per soddisfare le richieste energetiche di mantenimento. Il fabbisogno di mantenimento è stimato pari a 80 Kcal di NE_L per Kg di peso metabolico (dove peso metabolico è calcolato come $BW^{0.75}$). L'incremento dell'ingestione della sostanza secca varia da 0,5 Kg/100 Kg di peso corporeo in diete ad alta densità energetica a 1,5 Kg/100 Kg di peso vivo in diete meno concentrate. Le variazioni del peso corporeo dipendono dalla crescita delle masse muscolari, dall'accumulo di riserve energetiche (soprattutto delle masse adipose) e dal riempimento del tratto gastroenterico; tutti questi fattori richiedono una maggiore quantità di nutrienti e sono quindi correlati positivamente con l'ingestione della sostanza secca (Dwight, 1998).

Body condition score (BCS): studi condotti da Hayrli et al. (2002) e Contreras et al. (2004) mostrano una relazione inversa fra BCS ed assunzione di sostanza secca: durante il periodo di asciutta, l'ingestione decresce in modo lineare con l'incremento della massa corporea. Inoltre, il BCS è stato dimostrato essere in grado di influenzare la velocità con cui l'assunzione di sostanza secca declina durante le ultime 3 settimane prima del parto. Nelle vacche obese la quantità di alimento assunto è minore rispetto a quella denunciata dagli animali non obesi e si mantiene piuttosto costante fino al parto (Hayrli, 2002). Altre ricerche condotte su vacche da latte durante il post parto (Garnsworthy and Topps, 1982) hanno dimostrato che bovine grasse presentano un intervallo più ampio fra il picco di lattazione ed il picco della assunzione di sostanza secca rispetto a bovine magre.

Caratteristiche della dieta

Oltre alla palatabilità della razione, condizionata dagli alimenti utilizzati e dalla qualità dei medesimi, il formato della razione e la composizione chimica della stessa possono influenzare l'ingestione di sostanza secca delle bovine. Il tipo ed il livello sia delle proteine sia dei carboidrati, unitamente al tenore lipidico, rappresentano importanti parametri da considerare.

Formato della razione: la somministrazione della razione mediante unifeed generalmente consente alla bovina di ingerire di una maggior quantità di alimento.

Proteine alimentari: il contenuto proteico della dieta ha scarsa influenza sull'assunzione di sostanza secca. La depressione della ingestione che si osserva prima del parto può tuttavia essere attenuata incrementando il contenuto di proteina grezza (CP) della razione ed in particolare incrementando la quota della proteina degradabile a livello ruminale (RDP). Tale effetto in prossimità del parto risulta tuttavia pressoché nullo (Hayrli et al., 2002).

Carboidrati alimentari: l'assunzione di sostanza secca decresce all'aumentare del tenore di NDF nella dieta (Hayirli et al., 2002), mentre elevati livelli di assunzione sono stati registrati in presenza di diete ad elevato contenuto di carboidrati non strutturali (NSC) (Flopot et al., 1998; Olsson et al., 1998). La degradabilità ruminale dei carboidrati non strutturali può tuttavia modificarne gli effetti sulla ingestione: come indicato da Allen (2000), un incremento della degradabilità ruminale degli amidi può dare luogo ad una riduzione della assunzione volontaria di sostanza secca (VDMI) che in alcuni casi raggiunge anche i 3 Kg/d.

Grassi alimentari: l'assunzione di sostanza secca è inversamente proporzionale al contenuto in estratto etero della razione (Hayirli et al., 2002).

Condizioni ambientali

Fattori stressanti: numerosi aspetti legati all'ambiente in cui le bovine sono allevate ne condizionano l'assunzione di sostanza secca. Tralasciando gli effetti esercitati dalle diverse tecnologie presenti in allevamento (cucette, ventilazione, spazi a disposizione degli animali) e dalle pratiche manageriali che possono creare stress e reazioni diverse negli animali, dal punto di vista fisiologico una grossa rilevanza assume lo stress da caldo, che viene citato come esempio. L'incremento della temperatura dell'aria, della umidità relativa e l'aumento della temperatura rettale, al di sopra di limiti critici, sono correlate con il decremento della assunzione di sostanza secca e del calo produzione di latte (West, 2003). L'organismo della bovina da latte ha a disposizione due sistemi per disperdere energia termica: sistemi evaporativi (sudorazione, polipnea) e sistemi non evaporativi (radiazione, conduzione e convezione). I mezzi non evaporativi diventano meno efficaci allorché la temperatura ambientale aumenta; la bovina diviene quindi sempre più dipendente dai mezzi evaporativi di raffreddamento. L'efficienza degli stessi viene tuttavia compromessa in seguito all'incremento della umidità relativa. Pertanto, durante il periodo estivo, caratterizzato da elevata umidità e temperatura, le bovine non possono dissipare una quantità di calore sufficiente per prevenire un incremento della temperatura corporea, manifestando lo stato di stress.

REGOLAZIONE FISICA

Secondo Allen (2000), i principali fattori fisici in grado di limitare l'assunzione di sostanza secca nella bovina da latte sono il tempo dedicato alla ruminazione e la distensione del tratto gastroenterico. Oltre a questi fattori dipendenti essenzialmente dalle caratteristiche anatomo-fisiologiche degli animali e dal loro regime alimentare, alcuni studi indicano come il volume dell'utero gravido e del grasso addominale possano, seppure limitatamente, interferire con la quantità di sostanza secca ingerita (Ingvarsen and Anderson, 2000).

Fattori anatomo-fisiologici

Ingombro della cavità addominale: l'utero gravido in accrescimento, che

al parto ha una massa approssimativamente di 70 Kg nelle bovine Frisone (Hayirli, 120), unitamente ad un aumento della quantità di grasso addominale, può esercitare una compressione fisica sul rumine tale da ridurre l'assunzione di sostanza secca (Mäkelä, 1956; Forbes, 1969). Questo fattore non può tuttavia giustificare la depressione della DMI al termine della gestazione e non deve essere eccessivamente enfatizzato in quanto dopo il parto non si verifica di fatto un rapido incremento nella assunzione volontaria di alimento (Friggens et al., 1998).

Tempo dedicato alla ruminazione: la ruminazione è un processo in grado di ridurre l'ingombro esercitato dagli alimenti nel tratto gastroenterico attraverso una riduzione delle dimensioni delle particelle ingerite. Pertanto, fattori alimentari in grado di aumentare il tempo di assunzione dell'alimento a scapito della ruminazione o, più in generale, fattori in grado di ridurre il tempo di ruminazione aumentano la distensione dei prestomaci, esercitando un effetto negativo sulla assunzione di sostanza secca (Allen, 2000).

Distensione del tratto gastroenterico: meccanicetori sensibili a leggeri stimoli meccanici e chimici e tensiocettori attivati dalla distensione delle pareti sono concentrati nello strato muscolare del reticolo e della porzione craniale del rumine, che risultano quindi essere i compartimenti del tratto gastroenterico più importanti nella regolazione dell'ingestione (Allen, 2000). In seguito alla assunzione di alimento, la distensione delle pareti determina la stimolazione di questi recettori che mandano segnali attraverso le fibre afferenti al centro gastrico del midollo allungato e quindi al centro della sazietà, che provvede ad integrarli con altri stimoli per determinare la cessazione del pasto (Allen, 2000). E' stato dimostrato come la distensione delle pareti del reticolo e del rumine siano influenzate tanto dal volume che dal peso delle ingesta (Schettini et al., 1999), per cui anche la densità dell'alimento assume un ruolo importante nel determinare l'assunzione di sostanza secca. Studi eseguiti da Dado e Allen (1995) hanno dimostrato come la cessazione del pasto in seguito a replezione del complesso rumine-reticolo avvenga quando circa l'88% del volume disponibile risulta occupato dalle ingesta. Poiché la capacità del tratto digerente aumenta con il numero di lattazioni (Smith and Baldwin, 1974), la cessazione del pasto è più ritardata nelle bovine pluripare. Questo spiega in buona misura quanto osservato in merito agli effetti del numero di lattazioni sulla DMI.

Fattori alimentari

Come precedentemente riportato, la distensione del tratto gastroenterico dipende sostanzialmente dalla densità dell'alimento. Mertens (1980) ha osservato come tale parametro sia in relazione inversa con il contenuto in NDF della dieta. Inoltre, una visione dinamica del funzionamento del comparto prestomacale della bovina da latte mette in evidenza come anche fattori in grado di modificare il tasso di digestione ed il flusso dal reticolo-rumine concorrano in maniera determinante a variare la distensione del tubo gastroenterico. Allen (2000) ha individuato questi fattori nella digeribilità dell'NDF dei foraggi e nella forma fisica degli alimenti fibrosi.

Contenuto in NDF della dieta: la fibra residua in seguito ad estrazione del

foraggio con una soluzione neutra (Neutral Detergent Fiber o NDF) è costituita dai maggiori componenti della parete cellulare: la lignina, la cellulosa e l'emicellulosa (Van Soest, 1994). Tali componenti rappresentano l'elemento strutturale dei tessuti vegetali, ed avendo una degradabilità ruminale limitata o nulla esercitano una importante influenza sulla distensione del rumine e del reticolo rispetto alle altre componenti vegetali, tendendo a permanere più a lungo in questi compartimenti del tubo digerente (Allen, 2000). L'NDF presenta una correlazione molto forte con l'assunzione di sostanza secca, tanto da essere stato indicato come la migliore (Waldo, 1986) o l'unica (Mertens, 1994) caratteristica dell'alimento utile per la predizione dell'ingombro e dell'energia contenuta nella dieta, quindi della assunzione di sostanza secca. In particolare, Mertens (1994) ha riscontrato una correlazione positiva fra NDF e DMI quando il livello energetico della razione, per i segnali metabolici cui dà luogo, limita l'ingestione, mentre tale correlazione risulta negativa quando l'ingombro limita l'assunzione. Come osservato da Allen (2000), l'assunzione di sostanza secca aumenta col decrescere dell'NDF contenuto nella dieta quando questo supera il 25%. In pratica, l'assunzione di sostanza secca aumenta fino a quando l'ingombro legato all'NDF diventa un fattore limitante. In carenza di NDF, la stessa sarà invece limitata da un eccesso di substrati metabolici assorbiti o dall'aumento della osmolarità ruminale.

Digeribilità dell'NDF alimentare: l'importanza della digeribilità dell'NDF nel determinismo della assunzione di sostanza secca dipende dal fatto che la fibra, rispetto ad altri componenti dei tessuti vegetali, ha dei tempi di ritenzione all'interno del reticolo-rumini superiori, e tanto maggiori quanto più limitata è la sua digeribilità; quando quest'ultima è ridotta, l'azione di ingombro risulta prolungata nel tempo. In questo contesto, è chiaro come un NDF a più elevata digeribilità ruminale transiti più rapidamente nei prestomaci, riducendo il volume di ingombro e consentendo così l'assunzione di ulteriore alimento (Oba et Allen, 1999). Dalla letteratura emerge che ad una unità di incremento della digeribilità misurata in vivo od in situ corrisponde un incremento della assunzione di sostanza secca pari a 0,17 Kg (Allen, 2000).

Tale effetto positivo dell'aumentata digeribilità dell'NDF può essere alterato e talvolta annullato dal prolungamento del tempo di ritenzione della fibra stessa in seguito al suo galleggiamento all'interno della cavità ruminale. Come osservato da Allen (1996) le particelle di erba medica sembrano avere un tempo di galleggiamento nel rumine inferiore rispetto alle graminacee, manifestando un minor tempo di scomparsa dal reticolo-rumini nonostante la minor digeribilità dell'NDF in esse contenuto. Il tempo di galleggiamento sembra legato non tanto alla densità delle particelle quanto alla loro struttura anatomica ed alla cinetica della loro digestione (Jung et al., 1995), nella misura in cui questa porta alla formazione di gas (anidride carbonica e metano) al loro interno. Una elevata quantità di NDF potenzialmente digeribile ed un ridotto tasso di fermentazione, spesso riscontrati nelle graminacee perenni, sembrano fattori in grado di prolungare il tempo di galleggiamento (Allen, 1996). Analogamente, anche la fragilità dei tessuti vegetali può alterare la risposta in termini di DMI alla digeribilità dell'NDF. La maggior fragilità delle particelle dell'erba medica sembra ridurre il tempo di ritenzione nel reticolo-rumini, con minor effetto di ingombro ed incrementata ingestione.

Forma fisica degli alimenti fibrosi: in generale, qualora la distensione delle pareti del reticolo-rumine sia il fattore limitante l'assunzione di alimento, una riduzione delle dimensioni delle particelle fibrose può incrementare l'ingestione. Studi condotti con razioni a base di insilato non hanno tuttavia sempre confermato questa tendenza (Allen, 2000). Una conferma della osservazione precedente deriva dai risultati ottenuti in seguito alla sostituzione del foraggio a fibra lunga con altre fonti di fibra aventi analogo NDF ma particelle di dimensioni inferiori, determinante un aumento della ingestione di sostanza secca.

REGOLAZIONE CHIMICA

La regolazione chimica della assunzione degli alimenti avviene ad opera di nutrienti, prodotti intermedi del metabolismo, ormoni e neurotrasmettitori. L'azione di tali mediatori chimici è probabilmente sinergica. La presenza di ingesta nel tubo gastroenterico, così come la fermentazione ruminale, l'assorbimento ed il metabolismo dei nutrienti danno generalmente luogo a stimolazioni neuro-ormonali responsabili della regolazione della ingestione a breve termine. Molti ormoni, inoltre, svolgono una azione diretta sui centri encefalici della fame (nucleo ventro-mediale dell'ipotalamo) o della sazietà (nucleo paraventricolare). Alcuni, prodotti da tessuti specifici (ad esempio, tessuto adiposo), possono regolare l'assunzione anche a lungo termine.

Fattori metabolico-nutrizionali

Osmolarità del liquido rumino-reticolare: l'osmolarità del fluido contenuto nei prestomaci dipende dalla concentrazione di sostanze osmoticamente attive in esso disciolte. I principali fattori di variabilità di questo parametro sono i sali minerali introdotti con la dieta ed i prodotti di fermentazione della sostanza organica. Nel reticolo e nel sacco craniale del rumine sono presenti recettori sensibili ad acidi, alcali e soluzioni ipo- ed iperosmotiche (Leek and Harding, 1975).

I principali prodotti della fermentazione ruminale sono gli acidi acetico, propionico e butirrico. Tali acidi in forma indissociata sono stati dimostrati stimolare i recettori epiteliali presenti nei prestomaci a concentrazioni fra le 40 e le 100 mM. L'acido butirrico presenta una maggiore attività stimolante rispetto all'acido propionico e la sensibilità recettoriale risulta accentuata a pH ridotti, ad indicare come il grado di eccitazione sia in relazione con il tasso di assorbimento degli acidi grassi volatili. Il tasso di assorbimento è correlato negativamente con il pH ed in generale è maggiore per l'acido butirrico ed inferiore per acido propionico ed acido acetico nell'ordine (Harding et Leek, 1972; Crichlow, 1980; Dijkstra, 1993). Poiché i recettori sono localizzati nella mucosa a livello della membrana basale, la loro stimolazione è subordinata all'assorbimento e questo spiega la maggior attività eccitatoria esercitata dall'acido butirrico. Un accumulo di acidi grassi volatili in pratica comporta un abbassamento del pH cui è associata una maggiore stimolazione dei recettori (che limitano l'assunzione di alimento) ed una accentuazione dei processi di assorbimento

degli acidi stessi.

Per quanto riguarda l'azione dei sali minerali disciolti, esistono molte evidenze relativamente alla esistenza di osmocettori nell'ambito della mucosa, ma tali strutture non sono state ancora individuate e comprese completamente. Una riduzione della assunzione di alimento, presumibilmente legata a stimolazione degli osmocettori, è stata ottenuta sperimentalmente attraverso l'infusione di glicole propilenico, di sodio acetato e di sodio cloruro. L'aumento extracellulare del sodio, in particolare, potrebbe agire sui meccanicettori aumentando la probabilità di trasmissione dei potenziali d'azione responsabili della cessazione del pasto (Allen, 2000).

L'incremento dell'osmolarità nel reticolo-rumino potrebbe inoltre limitare l'ingestione attraverso effetti fisiologici diversi, come ad esempio la disidratazione collegata al flusso di liquidi dal plasma al lume reticolo-ruminale per l'iperosmolarità di questo comparto ed alla perdita di liquidi attraverso la salivazione, cui consegue la secrezione di vasopressina che è stata dimostrata ridurre l'assunzione di alimento (Allen, 2000).

Substrati metabolici e loro ossidazione a livello epatico: il principale combustibile metabolico in grado di esercitare un effetto sulla assunzione di alimento sembra essere il propionato (Elliot, 1985), la cui influenza su questo parametro è stata dimostrata essere superiore a quella dell'acetato. Il meccanismo d'azione di questo metabolita è tuttavia ancora in fase di discussione. Choi e Allen (1999) hanno dimostrato come l'acido propionico svolga una azione specifica oltre quella osmotica attraverso l'infusione di soluzioni equimolari di propionato, acetato, dei relativi sali di Na e di cloruro di sodio nel reticolo-rumino ed ottenendo una maggiore risposta ipofagica con il propionato. Alcuni autori hanno riportato, dimostrandone l'esistenza in modo indiretto, la presenza di recettori specifici per il propionato nel fegato ed un coinvolgimento del plesso epatico nella trasmissione del segnale (Anil et Forbes, 1980): contrariamente a quanto rilevato per infusione sistemica nella vena giugulare infatti, l'infusione per via portale di propionato ha determinato riduzioni della assunzione variabili fra il 50 e l'80%, annullabili attraverso il blocco nervoso.

È stata proposta anche una azione indiretta del propionato (Grovm, 1995), sulla base del fatto che l'incremento del propionato determina un aumento dei livelli plasmatici di insulina e che questo ormone è stato dimostrato in grado di ridurre l'ingestione nella pecora.

Molti studi hanno messo in evidenza come il processo di ossidazione dei substrati metabolici nel fegato sia in grado, attraverso stimolazione nervosa del plesso epatico, di ridurre l'assunzione di sostanza secca. L'infusione di glucosio è stata osservata ridurre l'attività nervosa delle afferenze epatiche vagali in animali da esperimento, probabilmente per una aumentata attività della pompa del Na conseguente all'utilizzo del glucosio stesso nelle cellule oppure in seguito alla generazione di molecole riducenti conseguente alla ossidazione mitocondriale dei substrati energetici. Tuttavia, infusioni di glucosio non determinano variazioni della assunzione nelle bovine da latte e nei ruminanti in genere (Allen, 2000).

Proteine alimentari: nella maggior parte dei casi, il contenuto proteico risulta positivamente correlato con l'assunzione di sostanza secca anche se l'effetto non è costante e sempre evidente. Come sottolineato da Hayirli et al. (2000), l'incremento

dell'RDP ha un effetto positivo sulla assunzione di sostanza secca. Le ipotesi volte ad individuare una spiegazione sono diverse. La più basilare e semplice prende in considerazione l'incremento della digeribilità degli alimenti legato alla presenza di una maggior quantità proteina degradabile a livello ruminale (RDP), che riduce la distensione dei prestomaci (Van Soest, 1994; Oldham, 1984). Qualora la frazione proteica della razione sostituisca parzialmente l'amido in essa contenuto, la relazione positiva fra contenuto proteico ed ingestione di sostanza secca potrebbe essere attribuita alla riduzione della produzione di propionato conseguente alla carenza di carboidrati facilmente fermentescibili (Allen, 2000).

Un'altro effetto osservato è relativo all'apporto amminoacidico, il cui incremento sembra aumentare la clearance dei substrati metabolici dal sangue aumentando l'appetito e la frequenza dei pasti. Squilibri dell'apporto amminoacidico tali da determinare una riduzione dell'assunzione di alimento sono rari nei ruminanti in quanto la maggior parte degli amminoacidi assorbiti è di origine microbica (Allen, 2000).

Grassi alimentari: frequentemente, l'incremento del tenore lipidico della dieta determina una riduzione della assunzione di sostanza secca. I meccanismi attraverso i quali viene indotta tale depressione possono essere di diverso tipo e dipendere dall'effetto dei grassi sulla fermentazione ruminale, sulla motilità intestinale, sulla palatabilità della dieta, sul rilascio di ormoni intestinali e sui processi ossidativi epatici (Palmquist et Jenkins, 1980; Allen, 2000).

L'azione dei grassi a livello ruminale consiste essenzialmente in una inibizione dell'azione degradativa dei batteri a carico della fibra, con una riduzione della digeribilità della stessa e conseguente decremento di transito ed assunzione. È stato infatti ipotizzato che i lipidi agiscano ricoprendo superficialmente le fibre alimentari impedendo ai batteri di avvicinarsi sufficientemente per digerirne i costituenti, con riduzione, fra l'altro, della loro proliferazione. Inoltre, il grasso può causare la formazione di saponi di calcio insolubili, riducendo la disponibilità di questo elemento per l'attività microbica e la degradazione della fibra (Devendra and Lewis, 1974).

È stato osservato che la somministrazione di grasso alle bovine da latte determina un incremento dei livelli ematici di CCK, in grado di esercitare effetti ipofagici a livello centrale e periferico (Riedelberger, 1994).

La somministrazione di grassi supplementari alle bovine può incrementare i livelli ematici di acidi grassi, il la cui ossidazione a livello epatico altera i segnali nervosi vagali afferenti all'encefalo. Come avviene per il propionato, anche in questo caso la generazione di molecole riducenti e la produzione di ATP (con il suo effetto sulla pompa Na ATP dipendente), derivanti dal processo ossidativo, sono ritenuti essere all'origine della variazione della stimolazione nervosa (Allen, 2000).

Fattori ormonali

Diversi fattori ormonali hanno dimostrato una attività, di grado variabile, nella regolazione a breve ed a lungo termine della ingestione degli alimenti. Gli ormoni del ciclo riproduttivo, gli ormoni dello stress e la leptina in particolare

sembrano fornire una spiegazione ad alcune delle correlazioni osservate fra parametri zootecnici ed ingestione.

Ormoni riproduttivi: i più importanti ormoni legati al ciclo riproduttivo in grado di variare l'assunzione di alimento sono gli estrogeni ed il progesterone. Come dimostrato da Grummer et al. (1990), l'infusione per endovena di 17-beta-estradiolo determina nella bovina da latte una riduzione tanto della assunzione di alimento quanto della produzione. Analogamente, la somministrazione di 17-beta-estradiolo a dosi simili a quelle tipiche dell'estro e del parto si sono dimostrate in grado di ridurre l'assunzione di alimento in maniera dose-dipendente in maschi castrati di pecora e capra. Diversi studi condotti sui ratti hanno dimostrato come gli estrogeni agiscano almeno in parte direttamente a livello encefalico, ed in particolare sul nucleo paraventricolare dell'ipotalamo (Butera, 1989). L'effetto del progesterone sembra invece di tipo indiretto, e comunque caratterizzato da una azione di blocco dell'azione degli estrogeni nelle bovine da latte (Ingvarsdn et Andersen, 2000). Per la presenza di tale effetto antagonista, è stato ipotizzato che il rapporto estrogeni/progesterone influenzi l'assunzione di sostanza secca nel periparto (Grummer, 1995).

Ormoni dello stress: in condizioni di stress, la secrezione di Corticotrophin Releasing Factor (CRF) ad opera principalmente del nucleo paraventricolare dell'ipotalamo determina la produzione ipofisaria di ACTH e conseguentemente la secrezione di cortisolo da parte delle ghiandole surrenali. Fra questi ormoni, il CRF, è in grado di ridurre l'assunzione di alimento agendo a livello centrale, come dimostrato su diversi animali fra i quali i bovini. Al contrario l'ACTH, così come il cortisolo, non sembra influenzare l'appetito. Ipofisectomia e infusione di cortisolo esogeno non hanno infatti alcun effetto su assunzione di sostanza secca e azione del CRF (Ingvarsdn, 2000). Se si considera che in prossimità del parto si verifica un incremento del cortisolo e che il rilascio di questo ormone è mediato principalmente da CRF ed ACTH, è logico dedurre che il CRF possa avere un ruolo nel determinare la riduzione della assunzione della sostanza secca in questo periodo.

Altri ormoni

Leptina: la leptina è un ormone prodotto principalmente dalle cellule adipose, il cui livello è positivamente correlato con le riserve corporee (BCS) e risulta altamente influenzato dal digiuno o dalla eccessiva assunzione di alimento; come dimostrato da Halaas et al. (1995), è in grado di inibire la deposizione di tessuto adiposo. La sua secrezione è indotta a lungo termine dalla iperinsulinemia conseguente alla infusione di glucosio e dall'incremento dei lipidi plasmatici nella bovina da latte (Phrasant et al., 2003). L'iniezione intraperitoneale ed intracerebrale di leptina nei ratti determina una riduzione dell'assunzione di alimento, probabilmente agendo a livello ipotalamico (Ingvarsdn et Andersen, 2000).

Nella bovina da latte la concentrazione di leptina è risultata negativamente correlata con l'ingestione durante la prima fase di lattazione. Liefers et al. (2003) hanno osservato come la concentrazione di leptina risulta alta durante la gravidanza e declina raggiungendo il minimo al parto per effetto degli incrementati livelli di somatotropina e più tardi per la riduzione delle riserve lipidiche. Dopo 20 settimane

circa di lattazione i livelli somatotropina tendono a stabilizzarsi (Reist, 2003), anche in seguito al ripristino delle riserve adipose. Per spiegare la contemporanea presenza di elevati livelli di leptina e elevata assunzione di alimento durante la lattazione, Liefers et al. (2003) ipotizzano uno specifico decremento dei recettori per la leptina a livello ipotalamico, che ne impedirebbe l'azione anoressizzante od un incremento delle concentrazioni delle leptin binding protein a livello ematico che ne impedirebbero l'azione determinando una leptino-resistenza. Nonostante un effetto negativo sulla assunzione di alimento sia stato accertato per la leptina, esistono evidenze di un suo ruolo nella regolazione del metabolismo energetico e nel mantenimento delle performance (Reist, 2003) che rimane ancora, sotto molti punti di vista, da chiarire.

Insulina: l'insulina è il primo peptide per il quale è stata dimostrata una azione deprimente l'assunzione di alimento ed il peso corporeo. Nei ruminanti, la secrezione di insulina è determinata essenzialmente dall'incremento degli acidi grassi a corta catena in seguito al pasto e determina prevalentemente una regolazione a breve termine dell'ingestione (Grovmum, 1995). L'azione di questo ormone si esplica a livello del sistema nervoso centrale, dove specifici recettori sono localizzati sulle membrane dei neuroni e delle cellule gliali, oltre che in aree specifiche del cervello coinvolte nel controllo della assunzione dell'alimento e del metabolismo energetico. In particolare, l'insulina sembra agire, soprattutto nel lungo periodo, sul nucleo ventromediale dell'ipotalamo determinando la riduzione della assunzione dell'alimento. In accordo con Ingvarstsen et al. (2000), l'insulina potrebbe rivestire un ruolo nel determinare la riduzione della assunzione di alimento nella tarda gravidanza, ma è improbabile che il suo effetto sia sensibile nelle fasi precoci della lattazione, durante le quali si trova a ridotte concentrazioni basali nel plasma.

Glucagone e GLP-1: il glucagone si forma a partire da un precursore secreto principalmente dalle cellule delle isole del pancreas e dalle cellule endocrine della mucosa intestinale, il proglucagone, dalla cui frammentazione hanno origine altri importanti mediatori umorali, fra i quali il più attivo è il GLP-1. Evidenze dirette di un ruolo di questi peptidi nella regolazione della assunzione di sostanza secca esistono per l'uomo e per gli animali da laboratorio. L'infusione endovenosa di concentrazioni fisiologiche di glucagone è risultata efficace nel ridurre l'assunzione di alimento nelle pecore (Deetz et al., 1981), mentre più elevati livelli di GLP-1 sono stati riscontrati nelle pecore in lattazione rispetto a quelle in asciutta, probabilmente in relazione a più elevati livelli di assunzione di alimento. Poche informazioni sono disponibili in merito all'azione di questi due mediatori nei ruminanti. In uno studio condotto su bovine in lattazione, Benson e Reynolds (2001) hanno sottolineato il ruolo della trasformazione del proglucagone nell'intestino e dell'aumentato assorbimento di glucagone e GLP-1 formati nel pancreas da parte del fegato come potenziali mediatori della riduzione della assunzione di alimento conseguente all'aumentato flusso post ruminale di acidi grassi a corta catena.

Colecistochinina: considerata come "il prototipo dell'ormone periferico della sazietà", la CCK è secreta principalmente dal duodeno e dal digiuno (cellule secernenti CCK sono state localizzate anche in alcune aree del cervello) in seguito alla ingestione degli alimenti ed in particolar modo in seguito alla formazione dei prodotti della digestione di grassi e proteine. Possono essere secrete forme diverse di

CCK, aventi recettori di tipo periferico (CCK-A) o centrale (CCK-B). La stimolazione dei recettori periferici riduce la contrattilità della muscolatura liscia ruminale e lo svuotamento abomasale, generando nel contempo una stimolazione vagale diretta che fornisce informazioni sensoriali ai nuclei ipotalamici ventromediali e paraventrali. Nei ruminanti, una correlazione è stata dimostrata sia fra il livello dei grassi nella dieta e la concentrazione plasmatica di CCK, sia fra quest'ultima e la riduzione della assunzione di alimento (Ingvarsdn et Andersen, 2000).

Somatostatina: la somatostatina è secreta a livello encefalico ed intestinale e svolge una potente azione di inibizione nei confronti della somatotropina. L'effetto deprimente l'assunzione di alimento esercitato dalla somatostatina è stato dimostrato anche nei ruminanti (Ingvarsdn and Andersen, 2000). Bovine immunizzate nei confronti di questo ormone hanno manifestato una maggiore assunzione di sostanza secca e incremento ponderale giornaliero ed indice di conversione dell'alimento superiori rispetto al controllo (Ingvarsdn and Sejrnsen, 1995).

Neuropeptidi

I neuropeptidi sono sostanze cui attualmente viene attribuito il ruolo di mediare gli stimoli afferenti a livello centrale. Importanti peptidi aventi azione diretta sul sistema nervoso centrale sono il neuropeptide Y (NPY) e la Galanina, entrambi ad azione anoressizzante. Fra questi, particolarmente interessante sembra il NPY, la cui espressione risulta notevolmente incrementata in diverse aree del cervello in seguito a bilancio energetico negativo. Per questo è ritenuto svolgere un ruolo nell'incremento della assunzione di alimento nella prima parte della lattazione (Ingvarsdn et Andersen, 2000).

Segnali provenienti dal sistema immunitario

Tumor necrosis factor-alpha: nelle bovine, alte dosi di TNF-alfa esogeno ricombinante sono risultate in grado di causare ipofagia, depressione, cachessia e diarrea (Bielefeldt, 1989). È stato ipotizzato (Van-Miert et al., 1992) che la riduzione della assunzione di sostanza secca nelle bovine dipenda, almeno in parte, dalla inibizione della motilità ruminale determinata dal TNF-alfa.

Citochine: alcune citochine sembrano avere un notevole impatto sulla assunzione di sostanza secca. L'IL-1-beta ha manifestato sperimentalmente una forte attività anoressizzante, sia in fase acuta che cronica, determinando una riduzione sia della entità sia del numero dei pasti. Analogamente sembra essere il ruolo della IL-6 anche se i dati a disposizione sono scarsi (Ingvarsdn et Andersen, 2000).

CONCLUSIONI

Numerosi fattori di ordine fisico e chimico concorrono, in condizioni fisiologiche a determinare la regolazione della assunzione di sostanza secca nella bovina da latte. Alcuni hanno una azione diretta locale (es.: inibizione della motilità

esercitata dalla CCK sulla muscolatura liscia del tubo gastroenterico), ma la maggior parte viene elaborata ed integrata a livello centrale in un sistema notevolmente articolato. Data la complessità di tale regolazione, è evidente che i vari fattori citati possono assumere una importanza relativa diversa a seconda dei casi. In generale, la regolazione fisica diventa probabilmente un fattore primario nel momento in cui la richiesta energetica e l'ingombro aumentano contestualmente (Allen, 2000). I fattori fisici possono spiegare in parte la riduzione dell'assunzione in prossimità del parto come conseguenza del riempimento della cavità addominale, ma assumono probabilmente un significato maggiore durante i momenti di massima richiesta energetica, quando l'ingombro legato alla forma fisica della razione, al contenuto in NDF della dieta ed alla digeribilità dello stesso diventano fattori limitanti in quanto favoriscono la distensione del tubo gastroenterico. Complementare a questa osservazione risulta la problematica relativa ai fattori metabolico-nutrizionali di regolazione chimica. In particolare, il riferimento è relativo alla tipologia dei carboidrati non strutturali, dalla cui fermentazione dipende la produzione degli acidi grassi a corta catena, diretti responsabili delle variazioni della osmolarità insieme ai sali disciolti, stimolanti specifici siti recettoriali e substrato delle ossidazioni epatiche insieme ai lipidi. Influenzanti tali fermentazioni è inoltre la tipologia delle proteine, principalmente in relazione alla loro disponibilità ruminale. Notevolmente più complessa appare la regolazione chimica ormonale, che probabilmente rappresenta l'elemento di maggiore importanza nel determinare l'assunzione di alimento durante le varie fasi del ciclo produttivo-riproduttivo, in relazione anche allo stato corporeo ed alla produttività. A questo proposito, la leptina sembra assumere un ruolo centrale, variando in relazione al bilancio energetico. Da non trascurare è inoltre il ruolo degli ormoni sessuali, soprattutto in prossimità del parto, così come quello degli ormoni corticotropi e dei mediatori dell'immunità nel caso di condizioni stressanti e/o patologiche. Risulta evidente come, se i fattori fisici di regolazione della ingestione possono essere spiegati in termini piuttosto certi, la regolazione chimica risulta decisamente più articolata e difficilmente comprensibile nel suo complesso. Nondimeno, la conoscenza degli aspetti fino ad ora chiariti, diventa utile e necessaria per interpretare correttamente la reazione degli animali in produzione alle diverse pratiche manageriali.

RIASSUNTO

Dalla assunzione di sostanza secca dipendono la disponibilità di energia, principale fattore limitante la produzione latte e l'input di tutti i nutrienti forniti con la razione. Numerosi parametri zootecnici risultano correlati con l'ingestione, ma la regolazione della stessa dipende dalla integrazione di fattori di tipo fisico (fisiologici ed alimentari) e chimico (metabolico-nutrizionali, alimentari, neuro-ormonali ed immunitari) che assumono una importanza variabile nelle diverse fasi del ciclo produttivo-riproduttivo della bovina da latte e che rappresentano la spiegazione biologica delle osservazioni effettuate. I fattori di tipo fisico sono attualmente definiti in termini piuttosto chiari mentre la regolazione chimica è ancora oggetto di numerose ricerche. La conoscenza di tali meccanismi di regolazione risulta tuttavia

importante per una corretta interpretazione della reazione delle bovine alle diverse pratiche manageriali.

Parole chiave: assunzione di sostanza secca, bovine da latte, regolazione, fattori chimici, fattori fisici.

SUMMARY

Dry matter intake affect energy availability, which is the main factor limiting milk yield and the input of all dietary nutrients. Many zootecnical parameters have been related to feed intake but his regulation depends on the integration of physical (physiological and nutritional) and chemical (metabolic-nutritional, dietary, neuro-hormonal and immunitary) factors which assume variable weight in the different phases of the dairy productive and reproductive cycle. At the moment, physical factors are clearly defined while chemical regulation is still object of many researches. The knowledge of these mechanisms of regulation appear important for the correct interpretation of dairy reactions to management practices.

Key words: dry matter intake, dairy cows, regulation, physical factors, chemical factors.

BIBLIOGRAFIA

Allen, M. S. 1996. Physical constraints on voluntary intake of forage by ruminants. *J. Anim. Sci.* 74:3063–3075.

Allen, M.S. 2000. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 83:1598-1624.

Anil, M. H., and J. M. Forbes. 1980. Feeding in sheep during intraportal infusions of short-chain fatty acids and the effect of liver denervation. *J. Physiol.* 298:407–414.

Benson, A. J. and C. K. Reynolds. 2001. Effect of abomasal infusion of Long-Chain fatty acids on Splanchnic Metabolism of pancreatic and Gut Hormones in Lactating Dairy Cows. *J.Dairy Sci.* 84:1488-1500.

Bielefeldt, O.H., M.Campos, M.Snider, N.Rapin, T.Beskorwayne, Y.Popowych, M.J.Lawman, A.Rossi, and L.A.Babiuk. 1989. Effect of chronic administration of recombinant bovine tumor necrosis factor to cattle. *Vet. Pathol.* 26:462-472.

Block, S. S., W. R. Butler, R. A. Ehrhardt, A. W. Bell, M. E. Van Amburgh, and Y. R. Boisclair. 2001. Decreased concentration of plasma leptin in periparturient dairy cows is caused by negative energy balance. *J. Endocrinol.* 171:339–348.

Butera, P. C., and R.J. Beikirch. 1989. Central implants of diluted estradiol: Independent effects on ingestive and reproductive behaviors of ovariectomized rats. *Brain Res.* 491:266-273.

- Choi, B. R., and M. S. Allen. 1999. Intake regulation by volatile fatty acids and physical fill. *S. Afr. J. Anim. Sci.* 29(ISRP):40–41(Abstr.).
- Contreras, L.L., C.M. Ryan, and T.R. Overton. 2004. Effects of dry cow grouping strategy and prepartum body condition score on performance of transition dairy cows. *J.Dairy Sci.* 87:517-523.
- Crichlow, E. C., and B. F. Leek. 1980. The importance of pH in relation to the acid-excitation of epithelial receptors in the reticulo-rumen of sheep. *J. Physiol.* 310:60P–61P.
- Dado, R. G., and M. S. Allen. 1995. Intake limitations, feeding behavior, and rumen function of cows challenged with rumen fill from dietary fiber or inert bulk. *J. Dairy Sci.* 78:118–133.
- Deetz, L.E., and P.J. Wangsness. 1981. Influence of intrajugular administration of insulin, glucagon and propionate on voluntary feed intake in sheep. *J. Anim. Sci.* 53:427-433.
- Devendra, C., and D. Lewis. 1974. The interaction between dietary lipids and fibre in the sheep. *Anim. Prod.* 19:67-76.
- Dijkstra, J., H. Boer, J. van Bruchem, M. Bruining, and S. Tamminga. 1993. Absorption of volatile fatty acids from the rumen of lactating dairy cows as influenced by volatile fatty acid concentration, pH, and rumen liquid volume. *Br. J. Nutr.* 69:385–396.
- Dwight, K.R. 1998. Dry matter intake of dairy cattle: prediction, performance and profit. In *Tri-State Dairy Nutrition Conference*, April, 1998.
- Elliot, J. M., H. W. Symonds, and B. Pike. 1985. Effect on feed intake of infusing sodium propionate or sodium acetate into a mesenteric vein of cattle. *J. Dairy Sci.* 68:1165–1170.
- Flipot, P.M., G.L. Roy, and J.J. Dufour. 1998. Effect of peripartum energy concentration on production performance of Holstein cows. *J.Dairy Sci.* 71:1840-1850.
- Forbes, J.M. 1969. The effect of pregnancy and fatness on the volume of rumen content in the ewe. *J.Agric.Sci* 70:171-177.
- Friggens, N.C., G.C. Emmans, I. Kyriazakis, J.D. Oldham, and M.Lewis. 1998. Feed intake relative to stage of lactation for dairy cow consuming total mixed diets with a high or low ratio of concentrate to forage. *J.Dairy Sci.* 81:2228-2239.
- Garnsworthy, P.C. and J.H.Topps. 1982. The effects of body condition at calving, food intake and performance in early lactation on blood composition of dairy cows given complete diets. *Anim.Prod.* 35:121-125.
- Grovum, W. L. 1995. Mechanisms explaining the effects of short chain fatty acids on feed intake in ruminants-osmotic pressure, insulin and glucagon. Pages 173–197 in *Ruminant Physiology: Digestion, Metabolism, Growth and Reproduction*, W. v.

Englehardt, S. Leonhard-Marek, G. Breves, D. Geisecke, ed. Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart, Germany.

Grummer, R. R., 1995. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. *J. Anim. Sci* 73:2820-2833.

Grummer, R. R., S. J. Bertics, D. W. LaCount, J. A. Snow, M. R. Dentine, and R. H. Stauffacher. 1990. Estrogen induction of fatty liver in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 73:1537-1543.

Halaas, J. L., K. S. Gajiwala, M. Maffei, S. L. Cohen, B. T. Chait, D. Rabinowitz, R. L. Lallone, S. K. Burley, and J. M. Friedman. 1995. Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. *Science* 269:543-546.

Hayirli, A., R.R. Grummer, E.V. Nordheim, and P.M. Crump. 2002. Animal and dietary factors affecting feed intake during the prefresh transition period in Holsteins. *J. Dairy Sci.* 85:3430-3443.

Harding, R., and B. F. Leek. 1972. Rapidly adapting mechanoreceptors in the reticulo-rumen that also respond to chemicals. *J. Physiol.* 223:32P-33P.

Ingvarsen, K.L., and J.B. Andersen. 2000. Integration of metabolism and intake regulation: A Review Focusing on Periparturient Animals. *J Dairy Sci.* 83:1573-1597.

Ingvarsen, K.L., and K. Sejrsen. 1995. Effect of immunization against somatostatin (SS) in cattle: a review of performances, carcass composition and possible mode of action. *Acta Agric. Scand., Sect. A, Anim. Sci.* 45:124-131.

Jung, H. G., and M. S. Allen. 1995. Characteristics of plant cell walls affecting intake and digestibility of forages by ruminants. *J. Anim. Sci.* 73:2774-2790.

Leek, B.F., and R.H. Harding. 1975. Sensory nervous receptors in the ruminant stomach and the reflex control of reticulo-ruminal motility. Pages 3-18 in *Control of Digestion and Metabolism in Ruminants*. L.P. Milligan, W.L. Grovum, and A. Dobson, ed. Prentice Hall, Englewood Cliffs, NJ.

Liefers, S.C., R.F. Veerkamp, M.F.W. Pas, C. Delavaud, Y. Chilliard and T. van der Lende. 2003. Leptin concentrations in relation to energy balance, milk yield, intake, live weight, and estrus in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86:799-807.

Mäkelä, A. 1956. Studies on the question of bulk in the nutrition of farm animals with animals with special reference to cattle. *Acta Agraria Fennica* 85:130.

Mertens, D. R. 1994. Regulation of forage intake. Pages 450-493 in *Forage Quality, Evaluation, and Utilization*, G. C. Fahey, Jr, M. Collins, D. R. Mertens, and L. E. Moser, ed., American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, and Soil Science Society of America, Madison, WI. 178

Oba, M., and M. S. Allen. 1999. Evaluation of the importance of the digestibility of neutral detergent fiber from forage: Effects on dry matter intake and milk yield of

dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82:589–596.

Oldham, J. D. 1984. Protein-energy interrelationships in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 67:1090–1114.

Olsson, G., H. Emanuelson, and H. Wiktorsson. 1998. Effects of different nutritional levels prepartum on the subsequent performance of dairy cows. *Livest. Prod. Sci.* 53:279-290.

Palmquist, D.L., and T.C. Jenkins. 1980. Fat in lactation rations: Review. *J. Dairy Sci.* 63:1-14.

Prasanth K. C., D. H. Keisler* and J. J. Kennelly. 2003. Response of Plasma Leptin Concentration to Jugular Infusion of Glucose or Lipid Is Dependent on the Stage of Lactation of Holstein Cows. *J. Nutr.* 133:4163-4171.

Reidelberger, R. D. 1994. Cholecystokinin and control of food intake. *J. Nutr.* 124:1327S–1333S.

Reist M., D. Erdin, D. von Euw, K. Tschuemperlin, H. Leuenberger, C. Delavaud, Y. Chilliard, H. M. Hammon, N. Kuenzi and J. W. Blum. 2003. Concentrate Feeding Strategy in Lactating Dairy Cows: Metabolic and Endocrine Changes with Emphasis on Leptin *J. Dairy Sci.* 86:1690-1706.

Schettini, M. A., E. C. Prigge, and E. L. Nestor. 1999. Influence of mass and volume of ruminal contents on voluntary intake and digesta passage of a forage diet in steers. *J. Anim. Sci.* 77:1896–1904.

Smith, N. E., and R.L. Baldwin. 1974. Effects of breed, pregnancy, and lactation on weight of organs and tissues in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 57: 1055-1060.

Van-Miert, A.S., C.T. Van-Duin, and T.Wensing. 1992. Fever and acute phase response induced in dwarf goats by endotoxin and bovine and human recombinant tumour necrosis factor alpha. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 15:332-342.

Van Soest, P.J. 1994. Fiber and Physicochemical Properties of Feeds. In “Nutritional Ecology of the Ruminant” 2nd Ed. pp. 140-155.

Waldo, D.R. 1986. Effect of forage quality on intake and forage-concentrate interactions. *J. Dairy Sci.* 69:617-631.

West, J.W. 2003. Effects of heat-stress on production in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 86(6):2131-44.

MICROBIAL CHARACTERIZATION OF ORGANIC DAIRY PRODUCTS: STRACCHINO AND RICOTTA CHEESES.

Paris A.*, Bacci C. *, Salsi A.*, Bonardi S. *, Brindani F. *

Introduction

Organic farming is a production technique that realizes a more correct relationship between territory and environment, respecting the naturalness and the seasonality of every cultivation, using entirely the renewable energies and valuing territorial resources to the maximum. In these years the perception has been created that organic agricultural products are qualitatively advanced regarding conventional ones; some studies, in fact, demonstrated that consumers consider them healthier, safer and mainly advisable for the categories of sensitive people, such as children. Between the reasons for the choice of organic foodstuffs sure importance assumes the better sensorial quality, with particular reference to taste. If we also consider, as a part of the quality concept, the production process and environment and the cultural tradition, organic agricultural products can, effectively, boast qualities that differentiate them from conventional ones (1, 3, 7). However the enormous credit attributed to organic products still has not been confirmed by scientific studies on sanitary, nutritional, sensorial and technological quality. The development of "bio foods", therefore, should be bound together to a constant and crescent deepening of the scientific contents, in order to widen our knowledge and guarantee the effective advantages connected to the consumption of organic foodstuffs (2). Milk and dairy products belong, surely, to the most studied foodstuffs of animal origin, nevertheless the number of comparative scientific studies between organic and conventional production is rather low. In a recent surveying on the composition of raw milk coming from organic and conventional breedings, no obvious differences between the production methods emerged. Anyway, some studies carried to evidence that organic milk has a greater content of proteins, casein and vitamins and a low percentage of mono-unsaturated fatty acids (6, 8, 13).

Ricotta cheese, a well-known cheese eaten in the whole country, once upon a time was suitable to satisfy the food necessities of the less well-to-do classes, thanks to its low price, while today it is valued for its recognized nutritional properties. This cheese, which is in fact appreciated for its versatility (from appetizers to desserts), has been revalued by dietician hygienist consumers because of its digestibility, low fat content and richness in sugars (lactose), sulphorated amino acids and proteins.

Stracchino cheese is a soft fat cheese-spread without rind, produced from

* Department of Animal Health, Section of Animal Origin Food Inspection, University of Parma

cow's whole milk only and characterized by fast lactic maturation and a delicate taste; therefore, it doesn't always maintain a competitive role on the market. Its high proteic and mineral content is accompanied by a remarkable fat one and therefore this cheese is more suitable in poor diets or for children and old people. Stracchino cheese was originally produced in Lombardia region but nowadays it is consumed in every northern region of the country (4).

From these considerations it can be evicted that scientific and technical literature on organic milk and dairy products quality is scarce and carries also to discordant results; the eventual differences between organic agricultural products and traditional ones should still be defined. The aim of this research was, therefore, the characterization of some organic cheeses, produced both in an industrial and in an handicraft environment. We proposed ourselves, moreover, to underline the eventual peculiarities of handicraft products comparing with industrial ones, in order to verify the existence of a meaningful correlation between little productions and an high quality of their foodstuffs. In this study, moreover, the limits of preservability of organic handicraft products were estimated, facing the various modalities of packaging (normal and modified atmosphere) adopted by the company, in order to suggest eventual improvements for the production process.

Materials and methods

Dairy organic products, represented by 11 handicraft Ricotta cheese samples (5-6 days shelf-life) and 10 Stracchino cheese samples (10 days shelf-life), packaged both in normal and Modified Atmosphere Packaging (MAP) and supplied by a cheese factory operating in Parma surroundings, were examined at the production time and at the expiry date. The survey was also extended to 28 industrial organic dairy samples (14 Ricotta and 14 Stracchino cheese) packaged in normal atmosphere, coming from the great distribution and examined at the end of the shelf-life only (15-20 days). The 49 samples were subjected to the following quantitative analytic determinations: lactobacilla (microorganisms of technological interest), total coliforms, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* (microorganisms pointing out lack of hygiene in the production process).

In this purpose, 25 g of each sample was diluted 1:10 in 225 milliliter of Ringer sterile solution $\frac{1}{4}$ concentrated (Oxoid, Basingstoke, England). Subsequently, serial dilutions were prepared in order to carry out the counting of colonies on the respective selective media.

For the isolation of lactobacilla, pouring in Man Rogosa Sharpe Agar (MRS, Oxoid) plates was performed, followed by incubation at 42° for 48-72 hours, in microaerophilic atmosphere (10% CO₂).

In order to count the total coliforms, the pour plate method in Violet Red Bile Agar (VRBA, Oxoid) and incubation at 37°C for 24 hours were carried out, followed by confirmatory tests of the suspect colonies (gas production from lactose in Brilliant Green Broth).

For the isolation of *E. coli* two different methods were followed: 1) colonies direct count by plating on Chromocult - Coliform Agar (Merck, Darmstadt,

Germany) plates, incubated at 37°C for 24 hours 2) Most Probable Number (MPN) technique associated with inoculation in Lauryl Sulfate Broth (LSB, Oxoid) tubes and subsequent confirmation in Brilliant Green Broth (BGB, Oxoid). The suspect colonies identification was carried out by the indole test and the series of biochemical tests of the API 20E® (bioMérieux, Marcy L'Etoile, France) system (9, 12). Two procedures were employed for the determination of *S. aureus*: 1) inoculation on Baird Parker Agar (BP, Oxoid) plates with incubation at 37°C for 48 hours and confirmation of suspect colonies by coagulase test (Rabbit plasma, bioMérieux); 2) isolation on Baird Parker Agar added with Rabbit Plasma Fibrinogen (RPF, bioMérieux) added BP, with incubation at 37°C for 48 hours, allowing an immediate identification of the coagulase-positive colonies.

The examined samples were also analysed for pathogenic microorganisms (*Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes*), following the procedures provided by the ISO 6579:1993 method for *Salmonella* spp. and by the UNI EN ISO 11290-1 method for *L. monocytogenes*.

Results

The number of lactobacilla was higher than the method revelation limit (100 CFU/g) in six (54.5%) handicraft samples of Ricotta cheese, packaged in MAP, ranging from values of 10² CFU/g to 1.8x10⁴ CFU/g at the production time. At the end of the shelf-life, instead, lactobacilla values in 90.9% of the samples were higher than the method sensitivity and comprised between 2.0x10² CFU/g and 2.4x10⁶ CFU/g. In normal atmosphere-packaged samples, the results ranged from 10² CFU/g to 9.8x10³ CFU/g at the production, and from 10² CFU/g to 6.6x10⁵ CFU/g after the expiry date. Only two (14.3%) industrial samples gave results lower than the revelation limit, while in the remaining samples lactic bacteria varied from a minimum of 3.5x10² CFU/g to a maximum of 2.3x10⁸ CFU/g (Figure n. 1). In handicraft produced stracchino cheese samples, manufactured in simple atmosphere, the lactobacilla mean value ranged from 3.8 x10⁷ CFU/g, at the production time to 5.1x10⁷ CFU/g after the shelf-life period. In the same products, packaged in MAP, the mean value at the production time was of 2.6x10⁷ CFU/g and 4.2x10⁷ CFU/g at the expiration time (Figure n. 2). In industrially produced samples, lactic bacteria varied from a minimum of 2.7x10⁴ CFU/g to a maximum of 4.1x10⁷ CFU/g. The biochemical tests of API 20E system also allowed to identify, in the industrial samples of Stracchino cheese, some strains of *Klebsiella oxytoca* (5 samples - 35.7%), *Klebsiella pneumoniae* (2 samples - 14.3%), *Enterobacter cloacae* (3 samples - 21.4%), *Enterobacter sakazakii* (1 sample - 7.1%) and *Citrobacter freundii* (2 samples - 14.3%).

The values of total coliforms, in handicraft Ricotta cheese samples packaged in MAP, ranged from a minimum of 1.5x10² CFU/g to a maximum of 3.6x10⁷ CFU/g at the end of shelf-life. Ricotta cheese packaged in normal atmosphere showed similar coliform values, even if the mean value was a little higher. Only two industrial samples (14.3%) showed values higher than the revelation limit (3.2x10² CFU/g and 8.5x10² CFU/g). Total coliforms were isolated from 80.0% of handicraft Stracchino cheese samples packaged in normal atmosphere, with values ranging between 3.6x10²

CFU/g and 4.9×10^5 CFU/g at time zero, and between 2.3×10^3 CFU/g and 4.0×10^6 CFU/g at the end of the shelf-life. The products packaged in MAP showed recoveries comprised between 2.5×10^2 CFU/g and 4.3×10^5 CFU/g at the production time and between 1.5×10^2 CFU/g and 4.3×10^6 CFU/g at the end of the shelf-life. Finally, only one industrial stracchino cheese sample (7.1%) was contaminated by total coliforms (10^2 CFU/g).

In Ricotta cheese samples, the MPN technique only was able to detect *E. coli* in three handicraft samples (30.0%) at the production time, packaged both in MAP (0.9/g), and in normal atmosphere (0.4 /g and 0.9 /g); one industrial sample (7.1%) only showed 0.4 *E. coli*/g. The same technique allowed to detect, in two Stracchino industrial samples (14.3%), 9 *E. coli*/g and 40 *E. coli*/g, while one handicraft sample (10.0 %), packaged in normal atmosphere, was contaminated by 1.100 *E. coli*/g. In two of the same samples (14.3%), analysed by the use of Chromocult Coliform Agar, colonies of *E. coli* were detected (one sample contaminated by 1.9×10^3 CFU/g, at the production time yet, and the other by 3.6×10^2 CFU/g at the end of the shelf-life). Both techniques allowed to isolate *E. coli* in one handicraft Stracchino cheese sample, packaged in MAP.

The count of coagulase-positive staphylococci in industrial dairy products was negative by both analytic techniques. Between handicraft products, only three Stracchino cheese samples of ten (30%), packaged in normal atmosphere, showed colonies of *S. aureus*, both at the production time (2.0×10^2 CFU/g, 1.0×10^2 CFU/g and of 4.5×10^2 CFU/g) and at the expiration time (1.5×10^2 CFU/g) employing Baird-Parker Agar medium. By using the same medium, added with RPF, one only sample (10%) resulted to be contaminated by *S. aureus*, with values of 1.4×10^3 CFU/g, at the production time and of 3.0×10^2 CFU/g at the end of its shelf-life. Only one handicraft sample, packaged in MAP (10%), plated on BP agar added with rabbit plasma, was contaminated by *S. aureus* (4.0×10^2 CFU/g at the production time and 5.0×10^2 CFU/g at the end of the shelf-life).

The pathogenic bacteria *Salmonella* spp. and *L. monocytogenes* were never detected in any of the analysed products (Stracchino and Ricotta cheese), both from industrial and handicraft production systems.

Considerations and conclusions

Comparing the data about the presence of lactobacilla, in handicraft and industrial Ricotta cheese samples, it emerges that values were higher in the second ones; the fact could be attributable to an eventual addition of starter microorganisms even if it is not usual in this kind of production. Comparing the packaging techniques we can assert that the employment of modified atmosphere did not inhibit the multiplication of the microorganisms shelf-life.

The situation observed in the samples of Stracchino cheese was the opposite, because handicraft products showed an higher content of lactobacilla if compared to the industrial ones and that was probably due to the addition of starter cultures in greater amount by the cheese factory. It goes remembered, in fact, that Stracchino cheese production technology does employ lactic ferments until values of 10^9 CFU/g

(10). In both kind of packaging of handicraft Stracchino cheese samples, the average of lactic bacteria increased during their shelf-life, even if such phenomenon was more evident in the industrial samples packaged in MAP, that seemed therefore to promote their development. The contamination values of total coliforms in industrial Ricotta cheese samples were lower, regarding handicraft products, that therefore offered a lower guarantee from the hygienic point of view. In particular, in the handicraft products total coliform values were lower in the samples packaged in MAP; probably the gas mixture used for conservation partly reduced their development. The data on coliforms, always lower than 100 CFU/g in industrial Stracchino cheese samples, showed instead a variability in handicraft ones; particularly, their increment was observed during the shelf-life period, in spite of refrigerated storage conditions; this could be due to psychrophilic bacteria multiplication.

E. coli was detected at low levels in both kind of Ricotta cheese samples. Nevertheless, the refrigeration storage maintained the contamination level of the production time.

For *E. coli* detection, MPN technique showed a higher sensitivity than plating method, in all samples of Ricotta and Stracchino cheese. Even if some samples of handicraft stracchino cheese, packaged both in normal and modified atmosphere, were contaminated and one of them exceeded the limits established by the Italian law (D.P.R. 54/97), the not detectable level of the microorganism in the remaining samples indicated that in the organic production cheese factory the Good Manufacturing Practices (GMP) were followed. It must be underlined that from the same Stracchino cheese samples also stafilococci and coliforms were isolated and that the contamination could have occurred in the post-pasteurization phase. In fact, the cheese packaging, differently from other production steps, was not executed by specialistic staff. Therefore we suggested to the company to characterize one single figure, professionally instructed on hygienic measures, as the packaging responsible. This strategy, together with the use of MAP, could be crucial also in order to extend the shelf-life of Stracchino cheese that, currently, is ten days long.

About the isolation of *S. aureus* from Ricotta cheese samples, no substantial difference was observed between the two different kind of production and between the packaging modalities. About Stracchino cheese samples, instead, it must be underlined that the industrial production rigorously respected the hygienic conditions, while in handicraft products, packaged in simple atmosphere, the microorganism was detected in 33.3% of the examined samples. The contamination of these products, higher than the industrial ones packaged in MAP, was surely not imputable to the conditioning system but to the production modalities. In fact, in the cheese factory the single manufacturing steps were manually executed and, moreover, every worker could interact with a product rather than with another, carrying therefore to a great variability not only between different batches of cheese but also between samples of the same batch.

The present study stressed the high hygienic level of Ricotta and Stracchino cheese production; from these products, in fact, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes* and *S. aureus* were never isolated. Moreover, the safety level observed in the handicraft cheese factory was satisfactory in complex, because *Salmonella* spp.

and *L. monocytogenes* were always absent from the examined samples. These data, concerning the safety of products that are normally consumed without being cooked, are very important to the consumers.

An additional suggestion about the sensorial features of handcraft Ricotta cheese samples packaged in normal atmosphere could be given. These products showed obvious modifications during the shelf-life period; often they were characterized by a great acid smell, superficial mould development and yellowish coloration. The phenomenon was particularly obvious in samples in which coliforms count was high. Therefore, It could be opportune to reduce of some days the shelf-life suggested for these products. In this purpose, industrial Ricotta cheese samples showed a greater preservability in time, even if with less appreciable sensorial qualities, in terms of taste, comparing with handcraft fresh ones.

About Stracchino cheese samples we can undoubtedly assert that the use of MAP did not meaningfully influence the growth of the microorganisms; nevertheless, these products maintained longer their original sensorial features.

We conclude, finally, remembering that the results of the present study did not evidence substantial differences, from a microbiological point of view, with those reported in literature on traditional, non-organic cheese productions. It emerges clearly, therefore, that the “objective” microbiological quality of these organic dairy products depends closely on the respect of hygienic measures and on the application of correct storage conditions, rather than on the industrial/organic type of production.

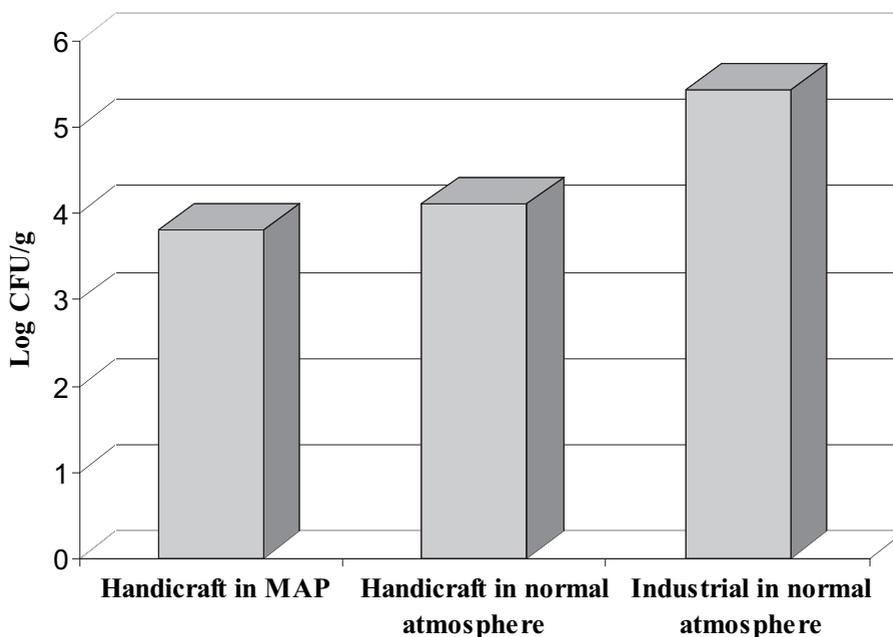


Figure n. 1: Presence of lactobacilla in samples of organic Ricotta cheese; mean values in different packaging conditions (normal/ modified atmosphere) and of production (handicraft/ industrial)

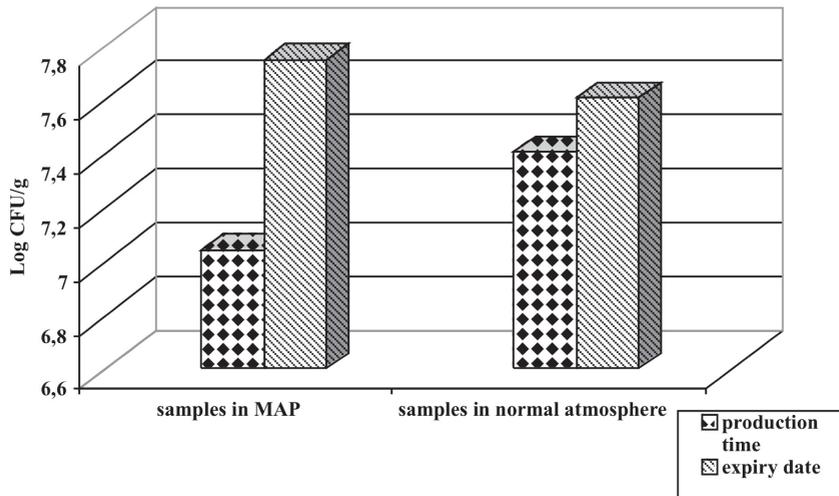


Figure n. 2: Presence of lactobacilla in organic samples of handicraft Stracchino cheese; mean values in different packaging conditions (normal/modified atmosphere)

Key-words:

organic Ricotta cheese, organic Stracchino cheese, microbial characterization, shelf-life.

Parole chiave:

ricotta biologica, stracchino biologico, caratterizzazione microbica, shelf-life.

Mots clés:

biologique ricotta, biologique stracchino, caractérisation microbiologique, durée de conservation

Summary

Samples of both industrial and handicraft organic Stracchino and Ricotta cheeses (packaged with or without modified atmosphere) were subjected to microbiological examination (lactobacilla, total coliforms, *E. coli*, *S. aureus*, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes*). The analyses were carried out at the production time and at the expiry date. The samples of handicraft Stracchino cheese showed a higher content of lactobacilla and a great variability in the value of total coliforms during the shelf-life period, if compared to the industrial samples. Moreover, coagulase-positive stafilococci and *E. coli* were detected, respectively, in 3 samples

and in 1 sample of handicraft Stracchino cheese. In handicraft Ricotta cheese, instead, the number of lactobacilla was higher if compared to the industrial products. Pathogenic microorganisms were absent in all the analysed samples.

Riassunto

Sono stati sottoposti ad indagini microbiologiche (lattobacilli, coliformi totali, *E. coli*, *S. aureus*, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes*) campioni di stracchino e ricotta biologici, sia artigianali (confezionati in atmosfera modificata e non) sia industriali. Le analisi sono state effettuate al momento della produzione e alla scadenza. I campioni di stracchino artigianali, rispetto a quelli industriali hanno presentato, mediamente, un tenore di lattobacilli superiore, un'elevata variabilità nel numero di coliformi totali, durante la shelf-life e, infine, una presenza di stafilococchi coagulasi positivi in 3 campioni e di *E. coli* in 1 campione. Invece nelle ricotte artigianali il numero di lattobacilli è risultato maggiore rispetto a quello presente nei prodotti industriali. In nessuna tipologia di latticini è stata riscontrata la presenza di patogeni.

Résumé

Des échantillons de stracchino et de ricotta biologiques, de production industrielle et artisanale, conditionnés avec et sans atmosphère modifiée, ont été soumis à recherches microbiologiques (lactobacilles, coliformes totaux, *E. coli*, *S. aureus*, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes*). Les analyses ont été conduites au moment de la production et à l'expiration. Les échantillons artisanales de stracchino, par rapport aux industriels, ont montré en moyenne, une teneur de lactobacilles supérieur, une variabilité élevée dans le nombre de coliformes totaux, pendant la shelf-life et, en conclusion, une présence de staphylocoques coagulase-positifs dans 3 échantillons et de *E. coli* dans 1 échantillon. Contrairement, dans les «ricotta» artisanales le nombre de lactobacilles été supérieur par rapport aux produits industriels. Dans aucune typologie de fromages on a trouvé la présence de pathogènes.

References

1. Bani P., Sandrucci A. (2003). Il metodo biologico e la qualità del latte. *Scienza e Tecnica lattiero-casearia*, 54, (4), 267-286.
2. Bray F. (2001). I pro e i contro della nuova agricoltura. *Tecnologie Alimentari*, 1, 8-14.
3. Brown C. M. (2001). Marketing and consumer awareness for organic produce. *Proc. Int. Conf. Organic Meat and Milk from Ruminants*, Athens, Greece. EAAP Publication n. 106, 65-71.

4. Ghitti C. et al. (1987). Il formaggio crescenza. Collana Tecnologica. Centro Sperimentale Lattiero-Caseario, Milano.
5. Guarino A., Fusco G., Romano M., De Marco G., Bani A. (1998). Indagine epidemiologica sulla presenza di Salmonella in alimenti di origine animale. *Industrie Alimentari*, XXXVII, 604-608.
6. Guinot-Thomas P., Jondreville C., Laurent F. (1991). Comparison of milk from farms with biological, conventional and transitional feeding. *Milchwissenschaft*, 46, 779-782.
7. Jamet J. P. (2000). Retailing of organic dairy products. *FIL IDF Bulletin* n. 347, 8-11.
8. Lund P. (1991). Characterization of alternatively produced milk. *Milchwissenschaft*, 166-169.
9. Ottaviani F. (1991). L'analisi microbiologica dei prodotti lattiero-caseari. *Tecniche Nuove* (Milano).
10. Soncini G., Valnegri L., Marchisio E. (2002). Indagine qualitativa su prodotti lattiero-caseari industriali. *Industrie Alimentari*, XLI, 933-936.
11. Stassi E., Amicano G., Caramello S., Biglia C., Gambino F. *E. coli*: quale significato nella sorveglianza sanitaria degli alimenti. Servizio Veterinario ASL 3 Torino, Dipartimento di Sanità pubblica e di microbiologia, Università di Torino.
12. Tantillo G., Aprile A. (2000). Indagine sulla presenza di caseine nella composizione proteica di ricotte commercializzate: valutazioni nutrizionali, igienico-sanitarie, legislative e sull'etichettatura. *Industrie Alimentari*, XXXIX, 579-585.
13. Toledo P., Andrei A., Bjorck L. (2002). Composition of raw milk from sustainable production systems. *Int. Dairy. J.*, 12, 75-80.
14. Zavanella M. (2000). Metodi per l'analisi microbiologica degli alimenti. "Iniziative zooprofilattiche e zootecniche", Brescia.

COMPOSIZIONE CHIMICA, COAGULAZIONE PRESAMICA E RESA DEL LATTE NELLA CASEIFICAZIONE A PARMIGIANO-REGGIANO: VARIAZIONI STAGIONALI

P. Formaggioni¹, M. Pecorari², P. Franceschi¹, A. Sabbioni¹, M. Malacarne¹,
A. Summer¹, P. Mariani¹

Introduzione

Il contenuto di caseina svolge un ruolo fondamentale, con il grasso, nella determinazione della resa del latte nella trasformazione casearia [1-10]. La quantità di formaggio varia in relazione diretta con la caseina e in misura tanto più stretta quanto più basso è il rapporto grasso/caseina del latte in caldaia, come si verifica nella produzione di Parmigiano-Reggiano e di Grana Padano, entrambi prodotti con latte parzialmente scremato [11, 12].

Il tempo di rassodamento (k_{20}) e la consistenza del coagulo (a_{30}) sono tra le proprietà tecnologiche maggiormente studiate ai fini della valutazione della resa, tanto da prendere in considerazione la possibilità di adottarle come parametri aggiuntivi nella elaborazione delle formule di previsione. Bynum e Olson [13], nella caseificazione a formaggio Cheddar, hanno osservato un effetto significativo della consistenza del coagulo sulla resa: un aumento di consistenza porta ad una diminuzione delle perdite di grasso e di caseina, e quindi ad un migliore rendimento della trasformazione.

Più in generale, come osservato da numerosi Autori [9, 14-16], le alterate condizioni tecnologiche di lavorazione e le scadenti caratteristiche reologiche della cagliata possono determinare una minore resa in formaggio, a causa di maggiori perdite di grasso e di caseina nel siero cotto, anche sotto forma di particelle di cagliata.

Le variazioni stagionali della composizione del latte, in particolare quelle riguardanti il contenuto di proteina, si riflettono in misura marcata sul rendimento della maggior parte delle trasformazioni casearie [1, 4]. In effetti, le variazioni della resa in formaggio sono in strettissima relazione con quelle dei contenuti di grasso e di caseina, e, in misura minore, con le variazioni di alcuni parametri di coagulazione presamica.

Pecorari e Mariani [17] hanno riscontrato per il Parmigiano-Reggiano bassi valori di resa in corrispondenza dei mesi di giugno, luglio e agosto, e valori elevati

¹ Scienze Zootecniche e Qualità delle Produzioni Animali - Dipartimento di Produzioni Animali, Biotecnologie Veterinarie, Qualità e Sicurezza degli Alimenti - Università degli Studi; via del Taglio 8, 43100 Parma.

² Laboratorio di Tecnologia Applicata, Consorzio del Formaggio Parmigiano-Reggiano, via Kennedy 18, 42100 Reggio Emilia.

nei mesi autunnali, in particolare ottobre. Questo dato trova conferma in letteratura: anche Ozimek e Kennelly [18] hanno potuto evidenziare un analogo andamento della resa in Cheddar, con valori minimi nei mesi di giugno, luglio e agosto e massimi in corrispondenza dei mesi autunnali. Mariani et al. [19], relativamente al Grana Padano, hanno riscontrato le rese più basse nei mesi di luglio e agosto e quelle più elevate in ottobre e novembre.

Differenti sono le osservazioni sperimentali di Banks e Tamime [20], che per il contenuto di grasso hanno riscontrato valori massimi in maggio e valori minimi in dicembre e in gennaio e per la caseina valori massimi in maggio e valori minimi in gennaio e novembre; di conseguenza la resa in formaggio (Cheddar) è risultata bassa in gennaio e più elevata in settembre e ottobre.

L'obiettivo della ricerca è stato quello di studiare le variazioni stagionali della resa e delle principali caratteristiche chimiche, chimico-fisiche e tecnologiche del latte in caldaia e del siero cotto, nel corso di 72 prove di caseificazione in formaggio Parmigiano-Reggiano condotte nell'arco di circa due anni.

Materiali e metodi

I prelievi hanno avuto luogo nell'arco di due anni e mezzo in 28 differenti caseifici, situati in provincia di Parma e variamente distribuiti tra pianura, collina e montagna. Presso ogni caseificio sono stati prelevati i latti di due distinte caldaie, lavorati in parallelo. Sono stati considerati latti con contenuto differente di caseina e di grasso, allo scopo di valutare meglio gli effetti dei due parametri sulla resa. Le lavorazioni sono state effettuate in diversi periodi stagionali. Il campionamento ha riguardato: a) il latte in caldaia: latte costituito dalla miscelazione del latte parzialmente scremato della mungitura della sera (affioramento naturale) e del latte intero della mungitura del mattino; il prelievo è stato fatto direttamente in caldaia all'inizio della lavorazione, prima dell'aggiunta di sieroinnesto; b) il siero cotto, prelevato in caldaia a fine lavorazione.

Sono stati effettuati rilievi ponderali su latte della sera, latte magro, panna, latte intero del mattino e latte in caldaia. È stato, inoltre, rilevato il peso delle forme a 24 ore, 6 mesi, 18 mesi e, in alcuni casi, a 24 mesi dalla produzione.

Nel corso del primo anno sono state condotte 22 prove di caseificazione, così suddivise: 4 in febbraio, marzo, giugno, ottobre e dicembre e 2 in aprile. Nel corso del secondo anno sono state condotte 42 prove di caseificazione, così suddivise: 6 in giugno e novembre, 4 in gennaio, febbraio, luglio, agosto, settembre e ottobre, 2 in aprile, maggio e dicembre. Nel corso del terzo anno sono state condotte 8 prove di caseificazione: 2 in gennaio, febbraio, marzo e aprile.

Sui 72 campioni di latte prelevato in caldaia sono state effettuate le seguenti determinazioni:

- Azoto totale (TN), azoto solubile a pH 4,6 (NCN) e azoto non proteico (NPN) mediante Kjeldahl, secondo Aschaffenburg e Drewry [21]; da cui: azoto caseina ($CN = TN - NCN$), caseina ($CN \times 6,38$), proteina vera ($(TN - NPN) \times 6,38$),

- sieroproteina vera ((NCN - NPN) x 6,38);
- Grasso e lattosio, mediante letture nel medio infrarosso [22] con Milkoscan 134 A/B;
 - pH mediante potenziometro e acidità titolabile con elettrotitolatore automatico Crison Compact D secondo il metodo di Soxhlet-Henkel [23];
 - Parametri di coagulazione presamica [24], con apparecchio Formagraph: r = tempo di coagulazione (min); k_{20} = tempo di rassodamento del coagulo (min); a_{30} = consistenza del coagulo misurata a 30 min dall'aggiunta del caglio (mm); $a_{1/2r}$ = consistenza del coagulo "aggiustata" per il tempo di coagulazione (mm);
 - Resistenza del coagulo alla compressione e resistenza al taglio [25] mediante Gel Tester, con misurazioni effettuate a 30 min dall'inizio della coagulazione;
 - Calcio e magnesio, totale e solubile, rispettivamente su latte e su siero presamico, mediante analisi complessometrica, [26];
 - Fosforo totale, solubile e acido-solubile, rispettivamente su latte, siero presamico e filtrato da acido tricloroacetico 12%, mediante analisi colorimetrica [27];
 - Acido citrico, totale e solubile, rispettivamente su latte e su siero presamico, mediante analisi colorimetrica dopo trattamento con acido tricloroacetico 12% [28, 29];
 - Cloruri (Cl^-) per titolazione con nitrato di argento, secondo Charpentier-Volhard [30].

Sui singoli campioni di siero cotto di fine lavorazione sono state effettuate le seguenti analisi:

- Azoto totale, mediante Kjeldahl, secondo Aschaffenburg e Drewry [21];
- Grasso, secondo il metodo volumetrico di Gerber [30];
- pH mediante potenziometro e acidità titolabile secondo Soxhlet-Henkel [23];
- Calcio e magnesio mediante analisi complessometrica [26];
- Fosforo mediante analisi colorimetrica [27].

I dati sono stati sottoposti ad elaborazione mediante analisi statistica descrittiva. Le variazioni stagionali sono state analizzate mediante ANOVA; la significatività statistica delle differenze è stata saggiata mediante controllo LSD (Least Significant Difference), applicando il programma del package statistico SPSS 12.0.1 per Windows (2003).

Risultati e discussione

Nelle tabelle 1-8 sono riportate le medie, nonché le variazioni stagionali delle rese, delle caratteristiche del latte in caldaia e delle caratteristiche del siero cotto.

Le rese riferite al latte in caldaia (Tab. 1) sono risultate sempre maggiori delle corrispondenti rese rapportate al latte di "massa" conferito in caseificio, poichè parte di quest'ultimo va a costituire la panna di affioramento.

Per quanto riguarda le variazioni stagionali della resa (Tab. 2), l'analisi è stata limitata ai valori di resa a 24 h e della resa a 6 mesi, in quanto per le rese "stagionate" la numerosità delle osservazioni è troppo bassa per poter avere una stima significativa. Tutti e quattro i tipi di resa hanno manifestato una significativa ($P \leq 0,05$; $P \leq 0,01$) variabilità stagionale: la resa del latte lavorato in autunno è risultata in ogni caso maggiore rispetto a quella ottenuta dai latti lavorati in inverno e in primavera. I minimi stagionali, al contrario, non sono così marcati: si presentano in inverno e in primavera per tutti i tipi di resa, ma la differenza rispetto al valore medio estivo è risultata statisticamente non significativa, così come è risultata statisticamente non significativa la differenza fra il valore registrato in estate e quello registrato in autunno. È risultata, invece, altamente significativa ($P \leq 0,0001$) la variazione stagionale del calo percentuale in peso tra 24 h e 6 mesi: le maggiori diminuzioni di peso sono state rilevate durante l'inverno e la primavera (9,39% e 9,48%); questi cali sono risultati significativamente più elevati rispetto a quelli registrati in estate e in autunno (8,54% e 8,73%); questo fenomeno, verosimilmente, è legato al fatto che il formaggio prodotto in inverno e in primavera, durante i primi 6 mesi di vita va incontro al caldo del periodo successivo estivo.

Le variazioni stagionali delle frazioni azotate (Tab. 3) sono risultate statisticamente non significative, ad eccezione di quelle dell'azoto solubile (NCN), che presenta un valore significativamente minore in inverno e dell'azoto non proteico (NPN), che presenta valori più elevati nei mesi autunnali. Evidentemente, le variazioni stagionali dell'azoto solubile sono in buona parte dovute a quelle dell'azoto non proteico, dato che la sieroproteina fa registrare variazioni statisticamente non significative. Anche per azoto totale (TN), proteina (proteina vera) e caseina sono state osservate variazioni statisticamente non significative.

Si può rilevare, comunque, che la caseina tende a diminuire nei mesi primaverili e ad aumentare durante i mesi autunnali; ciò in accordo con le variazioni stagionali della resa.

Le variazioni stagionali del contenuto in grasso (Tab. 4) sono risultate marcate ($P \leq 0,001$), con valori autunnali (2,80 g/100g) significativamente più elevati rispetto a quelli delle altre stagioni; è questo sicuramente il parametro che influisce in misura più importante sulle variazioni stagionali della resa. Il "grasso netto" (grasso del latte in caldaia meno grasso del siero cotto) ha manifestato variazioni stagionali statisticamente non significative; così come sono risultate statisticamente non significative le variazioni del rapporto grasso/caseina, sia riferito al grasso in caldaia, sia riferito al "grasso netto". La caseina del latte di massa (Tab. 3) ha fatto registrare variazioni stagionali statisticamente non significative; mentre il grasso del latte di massa (Tab. 4) ha mostrato differenze stagionali significative (valori maggiori in autunno e inverno; $P \leq 0,05$).

Il contenuto di calcio totale (Tab. 5) non è risultato influenzato dalla stagione, mentre il calcio solubile ha mostrato valori significativamente ($P \leq 0,05$) maggiori in inverno rispetto a estate e primavera. Anche il caseinato di calcio (Ca^{2+} associato al fosforo prostetico) ha manifestato significative ($P \leq 0,01$) variazioni stagionali, con valori più elevati in autunno; ciò in relazione al contenuto di caseina, che presenta analoghe variazioni stagionali. Le variazioni stagionali ($P \leq 0,05$) del calcio del fosfato

di calcio colloidale (calcio colloidale inorganico) sono risultate di segno opposto rispetto a quelle del caseinato di calcio, con valori maggiori in estate e in primavera e valori minori in autunno; in tal modo il calcio colloidale, nel suo insieme, è risultato caratterizzato da variazioni statisticamente non significative.

Il magnesio totale è risultato significativamente ($P \leq 0,05$) influenzato dalla stagione (valori più elevati in autunno) ed in maggior misura ($P \leq 0,001$) lo è stato il magnesio solubile (valori più elevati in primavera e in autunno).

Le variazioni inerenti la ripartizione del fosforo (Tab. 6) ripercorrono quelle del calcio: il fosforo totale ha presentato variazioni stagionali statisticamente non significative; il fosforo prostetico della caseina ha fatto registrare valori significativamente maggiori in autunno ($P \leq 0,01$); il fosforo del fosfato di calcio colloidale (ovvero il P colloidale inorganico) ha mostrato un andamento speculare a quest'ultimo, con valori significativamente ($P \leq 0,05$) più elevati in primavera e in estate e valori inferiori in autunno; di conseguenza, il fosforo colloidale, nel suo complesso, ha mostrato differenze stagionali statisticamente non significative.

L'andamento del fosforo solubile è risultato diverso da quello del calcio solubile; esso ha fatto registrare valori significativamente ($P \leq 0,01$) maggiori in primavera e valori minori in estate.

Tutte le frazioni dell'acido citrico hanno accusato variazioni stagionali statisticamente significative: acido citrico totale ($P \leq 0,001$), acido citrico solubile ($P \leq 0,01$) e acido citrico colloidale ($P \leq 0,05$) hanno mostrato valori più elevati in primavera. Il contenuto di cloruri ha presentato valori significativamente ($P \leq 0,01$) più bassi durante i mesi primaverili.

Acidità titolabile, pH e proprietà di coagulazione, come è noto, subiscono variazioni stagionali abbastanza sensibili. I dati qui osservati (Tab. 7) ne sono una conferma. È ampiamente dimostrata l'importanza che le proprietà di coagulazione rivestono per la qualità del latte destinato alla caseificazione e per la resa; le loro variazioni stagionali, insieme a quelle di grasso e di caseina, concorrono a rendere ragione delle differenze stagionali riguardanti la resa in formaggio. L'acidità titolabile ha accusato variazioni stagionali altamente significative ($P \leq 0,0001$), con valori più elevati in primavera ($3,33$ °SH/50ml) e più bassi in inverno ($3,12$ °SH/50ml); il pH ha presentato valori significativamente più bassi in inverno rispetto alle altre stagioni. Il tempo di coagulazione r ($P \leq 0,0001$), ritenuto più idoneo per la caseificazione (moderatamente basso), è stato osservato in primavera, mentre valori mediamente più elevati (peggiori per la caseificazione) sono stati registrati in estate; analogamente, il tempo di rassodamento del coagulo (k_{20}) più elevato (meno idoneo per la caseificazione) è stato osservato durante l'estate ($P \leq 0,05$). Anche la consistenza del coagulo a_{30} ($P \leq 0,0001$) ha fatto registrare valori meno idonei per la caseificazione (più bassi) in estate, mentre sono risultati decisamente migliori i valori osservati in primavera. Anche le proprietà reologiche hanno manifestato variazioni stagionali statisticamente significative: la resistenza alla compressione ($P \leq 0,01$) ha mostrato valori più bassi in estate, mentre la resistenza al taglio ($P \leq 0,05$) è risultata più favorevole in primavera.

Le caratteristiche del siero cotto di fine lavorazione (Tab. 8), hanno fatto registrare diverse variazioni stagionali statisticamente significative. L'azoto totale

del siero cotto ha mostrato valori maggiori ($P \leq 0,05$) in autunno rispetto a inverno e primavera; essi sono da rapportare a quelli osservati per l'azoto solubile del latte in caldaia. Anche i valori di fosforo totale del siero hanno subito variazioni stagionali significative ($P \leq 0,05$), presentando in estate valori inferiori rispetto a quelli delle altre stagioni; il fenomeno è da mettere in relazione con le variazioni stagionali che contraddistinguono il fosforo solubile del latte di caldaia, che manifesta valori inferiori proprio durante i mesi estivi. Le variazioni stagionali di calcio totale del siero sono risultate statisticamente non significative, mentre il magnesio ha fatto registrare valori maggiori in autunno e minori in estate ($P \leq 0,01$), in accordo con le variazioni stagionali del magnesio solubile del latte in caldaia. L'acidità titolabile del siero ha presentato valori significativamente ($P \leq 0,001$) maggiori in autunno rispetto a quelli delle altre tre stagioni.

Un rilievo a parte merita il grasso del siero cotto di fine lavorazione ($P \leq 0,001$). Come per il grasso del latte in caldaia, anche in questo caso i valori maggiori sono stati riscontrati in autunno; evidentemente, anche se una quota importante di grasso resta inglobata nella cagliata, concorrendo a determinare una più elevata resa in formaggio, rimane, comunque, il fatto che in autunno, rispetto alle altre stagioni, viene registrata una maggiore quantità di grasso che si perde nel siero cotto di fine lavorazione.

Conclusioni

La maggior parte dei costituenti del latte e le sue principali caratteristiche hanno fatto registrare importanti variazioni stagionali, in alcuni casi statisticamente significative. La resa casearia del latte in caldaia è risultata significativamente più elevata in autunno, sia a 24 h (8,52%; $P \leq 0,05$) sia a 6 mesi di stagionatura (7,77%; $P \leq 0,01$). Lo stesso vale per i valori della resa riferita al latte conferito al caseificio ("latte massa"): 8,33% a 24 h ($P \leq 0,01$) e 7,60% a 6 mesi ($P \leq 0,01$). All'età di 6 mesi il formaggio prodotto in autunno, in maniera non dissimile da quello prodotto in estate, ha fatto registrare un minor calo percentuale di peso: 8,73% autunno e 8,54% estate, contro 9,39% inverno e 9,48% primavera ($P \leq 0,0001$). Le proprietà di coagulazione presamica hanno manifestato variazioni stagionali piuttosto marcate; i valori dei parametri tempo di coagulazione, tempo di rassodamento e consistenza del coagulo sono risultati decisamente peggiori durante i mesi estivi.

Parole chiave: composizione latte, coagulazione presamica, resa casearia, Parmigiano-Reggiano, variazioni stagionali

Key words: milk composition, rennet-coagulation, cheese yield, Parmigiano-Reggiano cheese, seasonal variations

RIASSUNTO – Sono state studiate le variazioni stagionali della composizione chimica, delle proprietà di coagulazione e della resa casearia del latte nella produzione del Parmigiano-Reggiano. I prelievi sono stati effettuati nell'arco

di due anni e mezzo, in diversi periodi stagionali, presso 28 differenti caseifici di pianura, collina e montagna in provincia di Parma; in ogni caseificio sono stati prelevati i latti di due caldaie, lavorati in parallelo. Il campionamento ha riguardato il latte in caldaia e il siero cotto di fine lavorazione. Sono stati rilevati i pesi delle forme a 24 ore e a 6 mesi. La resa del latte lavorato in autunno è risultata significativamente maggiore sia a 24 h (8,52%; $P \leq 0,05$) che a 6 mesi (7,77%; $P \leq 0,01$) rispetto a quella ottenuta dal latte lavorato in inverno e in primavera. Lo stesso vale per i valori della resa riferita al latte conferito al caseificio ("latte massa"): 8,33% a 24 h ($P \leq 0,01$) e 7,60% a 6 mesi ($P \leq 0,01$). All'età di 6 mesi il formaggio prodotto in autunno, in maniera non dissimile da quello prodotto in estate, ha fatto registrare un minor calo percentuale di peso: 8,73% autunno e 8,54% estate, contro 9,39% inverno e 9,48% primavera ($P \leq 0,0001$). Le proprietà di coagulazione presamica hanno manifestato variazioni stagionali piuttosto marcate; i valori dei parametri tempo di coagulazione, tempo di rassodamento e consistenza del coagulo sono risultati decisamente peggiori durante i mesi estivi.

SUMMARY – *Chemical composition, rennet-coagulation properties and cheese yield of the milk for Parmigiano-Reggiano cheese production: seasonal variations.* Seasonal variations of chemical composition, rennet-coagulation properties and cheese yield of the milk for Parmigiano-Reggiano cheese production were studied. Samplings were made during two years and a half, at different seasonal periods, in 28 cheese factories located in plain, hill and mountain in the province of Parma; in every cheese factory the milks of two different vats were collected. Samplings regarded vat milk and cooked whey. The cheeses were weighed at 24 h and 6 months from the cheesemaking. Milk manufactured in autumn gave significantly higher cheese yield, both at 24 h (8.52%; $P \leq 0.05$) and at 6 months (7.77%; $P \leq 0.01$) with respect to the milk manufactured in winter and spring. The same result was registered for the yield obtained from the "overall" milk (whole milk of the evening milking + whole milk of the morning milking): 8.33% at 24 h ($P \leq 0.01$) and 7.60% at 6 months ($P \leq 0.01$). At the age of 6 months, the weight decrease for the cheeses produced in autumn and in summer was lower: 8.73% (autumn) and 8.54% (summer) vs 9.39% (winter) and 9.48% (spring) ($P \leq 0.0001$). Seasonal variations for rennet-coagulation properties were marked: clotting time, curd firming time and curd firmness values were clearly worse during summer months.

Bibliografia

- 1) BARBANO D.M., SHERBON J.W. (1984). *Cheddar cheese yields in New York*. J. Dairy Sci., 67, 1873-1883.
- 2) KERJEAN J.R. (1984). *Conséquences fromagères des variations de composition du lait: qualité chimique du lait de fromagerie*. Colloque INRA-ENSAR-INAPG "La composition chimique du lait et ses incidences technologiques", 1-15, Rennes (France), 28 septembre 1984.

- 3) VANDEWEGHE J. (1984). *Le rendement en fromage: prédétermination et mesure*. In "Le Fromage", 467-475, (Coord. A. Eck). Technique et Documentation (Lavoisier), Paris.
- 4) GILLES J., LAWRENCE R.C. (1985). *The yield of cheese*. N. Z. J. Dairy Sci. Technol., 20, 205-214.
- 5) BANKS J.M., CLAPPERTON J.L., MUIR D.D., GIRDLER A.K. (1986). *The influence of diet and breed of cow on the efficiency of conversion of milk constituents to curd in cheese manufacture*. J. Sci. Food Agric., 37, 461-468.
- 6) LAWRENCE R.C. (1988). *Les facteurs du rendement fromager des laits*. Revue Laitière Française, 478, 85-91.
- 7) LOU Y., NG-KWAI-HANG K.F. (1992a). *Effects of protein and fat levels in milk on Cheddar cheese yield*. Food Research International, 25, 437-444.
- 8) LOU Y., NG-KWAI-HANG K.F. (1992b). *Effects of protein and fat levels in milk on cheese and whey composition*. Food Research International, 25, 445-451.
- 9) LUCEY J., KELLY J. (1994). *Cheese yield*. J. Soc. Dairy Technol., 47(1), 1-14.
- 10) VAN DEN BERG M.G. (1994). *The transformation of casein in milk into the paracasein structure of cheese and its relation to non-casein milk components*. IDF, International Dairy Federation, Brussels, Belgium, s.i. no. 9402, 35-47.
- 11) ALEANDRI R., SCHNEIDER J.C., BUTTAZZONI L.G. (1989). *Evaluation of milk for cheese production based on milk characteristics and Formagraph measures*. J. Dairy Sci., 72, 1967-1975.
- 12) PECORARI M., FOSSA E., SANDRI S., TEDESCHI G., PELLEGRINO L., MARIANI P. (1995). *Il ruolo del contenuto in caseina del latte nella produzione del Parmigiano-Reggiano: resa, composizione chimica, proteolisi, lipolisi e caratteristiche organolettiche del formaggio stagionato*. Sci. Tecn. Latt.-cas., 46, 211-232.
- 13) BYNUM D.G., OLSON N.F. (1982). *Influence of curd firmness at cutting on Cheddar cheese yield and recovery of milk constituents*. J. Dairy Sci., 65, 2281-2290.
- 14) NG-KWAY-HANG K.F., POLITIS I., CUE R.I., MARZIALI A.S. (1989). *Correlations between coagulation properties of milk and cheese yielding capacity and cheese composition*. Can. Inst. Food. Sci. Technol. J., 22, 291-294.
- 15) MCCARRON S.B., STRUGNELL C.J. (1990). *An evaluation of fat recovery into Cheddar cheese in a modern creamery*. Irish J. Food Sci. Technol., 14, 25-33.
- 16) STRAND A.H., HULBÆKDAL A. (1993). *Effect of varying curd firmness at cutting on Norvegia cheese*. Meieriposten, 82(13;14), 372-379; 415-417.
- 17) PECORARI M., MARIANI P. (1990). *Caseina, attitudine alla coagulazione del latte, resa e qualità del formaggio*. Sci. Tecn. Latt.-cas., 41, 225-244.
- 18) OZIMEK L., KENNELLY J. (1993). *The effect of seasonal and regional variation in*

milk composition on potential cheese yield. In "Cheese yield & factors affecting its control" IDF Seminar, Cork (Ireland), 95-100.

- 19) MARIANI P., SUMMER A., MAFFEZZOLI F., ZANZUCCHI G. (1995). *Variazioni stagionali della resa del latte in formaggio Grana Padano.* Ann. Fac. Med. Vet., Univ. Parma, 15, 159-166.
- 20) BANKS J.M., TAMIME A.Y. (1987). *Seasonal trends in the efficiency of recovery of milk fat and casein in cheese manufacture.* J. Soc. Dairy Technol., 40, 64-66.
- 21) ASCHAFFENBURG R., DREWRY J. (1959). *New procedure for the routine determination of the various non-casein proteins of milk.* XVth Int. Dairy Congr., 3, 1631-1637.
- 22) BIGGS D.A. (1978). *Instrumental infrared estimation of fat, protein, and lactose in milk: collaborative study.* Journal of the Association of Official Analytical Chemists, 61, 1015-1034.
- 23) ANON. (1963). *Determinazione del grado di acidità del latte secondo Soxhlet-Henkel.* Milchwissenschaft, 18, 520.
- 24) ANNIBALDI S., FERRI, G., MORA, R. (1977). *Nuovi orientamenti nella valutazione tecnica del latte: tipizzazione lattodinamografica.* Sci. Tecn. Latt.-cas., 28, 115-126.
- 25) ANNIBALDI S. (1973). *Applicazioni della lattodinamografia, della gelometria e della tensiometria nella valutazione della attitudine del latte alla caseificazione.* Atti Corso Aggiornamento Tecnico Produzione Parmigiano-Reggiano (Ed. Consorzio Parmigiano-Reggiano), 129-145.
- 26) NTAILIANAS H.A., WHITNEY R. McL. (1964). *Calcein as an indicator for the determination of total calcium and magnesium and calcium alone in the same aliquot of milk.* J. Dairy Sci., 47, 19-27.
- 27) ALLEN R.J.L. (1940). *The estimation of phosphorus.* Biochemical Journal, 34, 858-865.
- 28) MARIER J.R., BOULET M. (1958). *Direct determination of citric acid in milk with an improved pyridine-acetic anhydride method.* J. Dairy Sci., 41, 1683-1692.
- 29) WHITE J.C.D., DAVIES D.T. (1963). *The determination of citric acid in milk and milk sera.* J. Dairy Res., 30, 171-189.
- 30) SAVINI E. (1946). *Analisi del latte e dei latticini,* Hoepli, Milano.

Tabella 1 – Medie delle rese (%) riferite al latte in caldaia e al latte di massa (ms) e cali di peso (%).

Table 1 – Mean value of cheese yields (%) reported to vat milk and to “overall” (ms) milk, and weight decreases (%).

	N	Media±DS Mean±SD	CV
Resa 24 h <i>24 h cheese yield</i>	72	8,19±0,52	6,35
Resa (ms) 24 h <i>24 h (ms) cheese yield</i>	62	8,00±0,53	6,63
Resa 6 mesi <i>6 months cheese yield</i>	66	7,48±0,49	6,55
Resa (ms) 6 mesi <i>6 months (ms) cheese yield</i>	62	7,28±0,50	6,87
Resa 18 mesi <i>18 months cheese yield</i>	28	7,11±0,55	7,74
Resa (ms) 18 mesi <i>18 months (ms) cheese yield</i>	28	6,96±0,51	7,33
Resa 24 mesi <i>24 months cheese yield</i>	28	7,00±0,48	6,86
Resa (ms) 24 mesi <i>24 months (ms) cheese yield</i>	28	6,82±0,46	6,74
Calo 24 h 6 mesi <i>24 h / 6 mo weight decrease</i>	66	9,12±0,74	8,11
Calo 6 m 18 mesi <i>6 mo / 18 mo weight decrease</i>	28	5,00±0,70	14,00
Calo 18 m 24 mesi <i>18 mo / 24 mo weight decrease</i>	28	1,98±0,80	40,40

ms = latte “massa”;

ms = “overall” milk: milk of the evening milking + milk of the morning milking

Tabella 2 – Variazioni stagionali delle rese a 24 h e a 6 mesi (%) riferite al latte in caldaia e al latte di massa (ms) e del calo peso tra 24 h e 6 mesi (%). Media±DS
Table 2 – Seasonal variations of 24 h and 6 months cheese yields (%) referred to vat milk and to “overall” milk (ms) and of 24 h ÷ 6 months weight decrease (%). Mean ± SD

	N	Inverno <i>Winter</i>	Primavera <i>Spring</i>	Estate <i>Summer</i>	Autunno <i>Autumn</i>	TOTALE <i>TOTAL</i>	P
Resa 24 h <i>24 h cheese yield</i>	72	8,06±0,41 ^a	8,06±0,58 ^a	8,17±0,43 ^{ab}	8,52±0,55 ^b	8,19±0,52	*
Resa (ms) 24 h <i>24h (ms) ch. yield</i>	62	7,78±0,44 ^a	7,84±0,57 ^a	8,02±0,23 ^{ab}	8,33±0,51 ^b	8,00±0,53	**
Resa 6 mesi <i>6 mo cheese yield</i>	66	7,30±0,38 ^a	7,32±0,55 ^a	7,52±0,40 ^{ab}	7,77±0,52 ^b	7,48±0,49	**
Resa (ms) 6 mesi <i>6 mo (ms) ch. yield</i>	62	7,05±0,41 ^a	7,12±0,54 ^a	7,34±0,19 ^{ab}	7,60±0,50 ^b	7,28±0,50	**
Calo 24 h ÷ 6 mesi <i>24 h ÷ 6 mo wt decr.</i>	66	9,39±0,65 ^b	9,48±0,70 ^b	8,54±0,80 ^a	8,73±0,66 ^a	9,12±0,74	****

a, b, differiscono per $P < 0,05$; a, b, differ for $P < 0,05$

*, $P \leq 0,05$; **, $P \leq 0,01$; ****, $P \leq 0,0001$

ms = latte "massa"; ms = “overall” milk: milk of the evening milking + milk of the morning milking

Tabella 3 – Variazioni stagionali della composizione del latte in caldaia: frazioni azotate e proteiche. Media±DS**Table 3** – Seasonal variations of vat milk composition: nitrogen and protein fractions. Mean ± SD

	N	Inverno <i>Winter</i>	Primavera <i>Spring</i>	Estate <i>Summer</i>	Autunno <i>Autumn</i>	TOTALE <i>TOTAL</i>	P
NT, mg/100g	72	493,1±32,0	494,8±31,4	504,9±17,9	514,4±22,6	502,0±28,3	ns
NCN, mg/100g	72	109,5± 7,4 ^a	112,3± 9,3 ^{ab}	115,6± 6,1 ^b	116,1± 6,8 ^b	112,9± 7,8	*
NPN, mg/100g	72	24,9± 2,5 ^a	25,3± 4,1 ^a	26,4± 3,2 ^{ab}	27,2± 3,0 ^b	25,9± 3,2	*
Proteina, g/100g <i>True protein</i>	72	2,99±0,20	3,00±0,19	3,05±0,11	3,11±0,14	3,04±0,17	ns
Sieropr., g/100g <i>Whey protein</i>	72	0,54±0,04	0,56±0,05	0,57±0,03	0,57±0,04	0,56±0,04	ns
Caseina, g/100g <i>Casein</i>	72	2,45±0,16	2,44±0,16	2,48±0,10	2,54±0,11	2,48±0,14	ns
Caseina (ms) <i>Casein (ms)</i>	62	2,35±0,17	2,34±0,17	2,35±0,09	2,46±0,08	2,38±0,14	ns
Ind. caseina, % <i>Casein number</i>	72	77,80±0,54	77,30±1,09	77,10±0,99	77,44±0,75	77,50±0,85	ns

a, b, differiscono per P<0,05; a, b, differ for P<0.05

ns, P>0,05; *, P≤0,05;

Caseina (ms) = caseina del latte «massa» (g/100g); *casein (ms)* = *casein of "overall" milk*

NT: azoto totale; NCN: azoto non caseinico; NPN: azoto non proteico

NT: total nitrogen; NCN: non casein nitrogen; NPN: non protein nitrogen

Tabella 4 – Variazioni stagionali di grasso, grasso netto e del rapporto grasso/caseina del latte in caldaia e del contenuto di grasso del latte di massa (g/100g). Media±DS

Table 4 – Seasonal variations of fat, “true” fat, fat to protein ratio and fat of “overall” milk (g/100g). Mean ± SD

	N	Inverno <i>Winter</i>	Primavera <i>Spring</i>	Estate <i>Summer</i>	Autunno <i>Autumn</i>	TOTALE <i>TOTAL</i>	P
Grasso, g/100g <i>Fat</i>	72	2,62±0,13 ^a	2,62±0,22 ^a	2,61±0,12 ^a	2,80±0,16 ^b	2,66±0,18	***
Gr. netto, g/100g <i>“True” fat</i>	72	2,20±0,13	2,15±0,22	2,20±0,11	2,29±0,19	2,22±0,18	ns
Grasso/caseina <i>Fat/casein</i>	72	1,07±0,09	1,07±0,07	1,05±0,05	1,10±0,05	1,07±0,07	ns
Gr. netto/cas. <i>“True” fat/casein</i>	72	0,90±0,07	0,88±0,07	0,88±0,05	0,90±0,06	0,89±0,06	ns
Grasso(ms) <i>Fat (ms)</i>	62	3,67±0,16 ^{ab}	3,52±0,27 ^a	3,48±0,16 ^a	3,76±0,18 ^b	3,64±0,22	*

a, b, differiscono per $P < 0,05$; a, b, differ for $P < 0,05$

ns, $P > 0,05$; *, $P \leq 0,05$; ***, $P \leq 0,001$

ms = latte «massa»; ms = “overall” milk

grasso netto = grasso latte in caldaia – grasso siero cotto

“true” fat = fat of vat milk – fat of cooked whey

Tabella 5 – Variazioni stagionali della composizione del latte di caldaia: distribuzione di calcio e magnesio (mg/100g). Media±DS

Table 5 – Seasonal variations of vat milk composition: distribution of calcium and magnesium (mg/100g). Mean ± SD

	N	Inverno <i>Winter</i>	Primavera <i>Spring</i>	Estate <i>Summer</i>	Autunno <i>Autumn</i>	TOTALE <i>TOTAL</i>	P
Ca totale <i>Total Ca</i>	72	111,8±4,8	112,7±6,8	110,7±4,2	113,6±4,2	112,6±5,1	ns
Ca solubile <i>Soluble Ca</i>	72	37,7±2,0 ^b	36,3±1,7 ^a	36,2±1,6 ^a	37,4±1,6 ^{ab}	37,1±1,9	*
Ca colloidale <i>Colloidal Ca</i>	72	74,1±5,0	76,5±6,0	74,6±3,4	76,3±4,1	75,5±4,8	ns
Ca coll. inorg. <i>Coll. inorg. Ca</i>	72	50,6±2,5 ^{ab}	51,7±5,6 ^b	51,8±4,9 ^b	48,6±3,6 ^a	50,5±4,2	*
Ca caseinato <i>Caseinate Ca</i>	72	23,6±4,6 ^a	24,8±4,0 ^a	22,8±6,6 ^a	27,6±2,9 ^b	25,0±4,7	**
Mg totale <i>Total Mg</i>	72	10,4±0,8 ^a	10,8±0,7 ^{ab}	10,4±1,4 ^a	11,1±0,8 ^b	10,7±1,0	*
Mg solubile <i>Soluble Mg</i>	72	7,6±0,5 ^a	8,1±0,6 ^b	7,4±0,3 ^a	8,1±0,4 ^b	7,8±0,5	***
Mg colloidale <i>Colloidal Mg</i>	72	2,9±0,9	2,7±1,1	3,0±1,2	3,0±0,8	2,9±1,0	ns

a, b, differiscono per $P < 0,05$; a, b, differ for $P < 0,05$
ns, $P > 0,05$; *, $P \leq 0,05$; **, $P \leq 0,01$; ***, $P \leq 0,001$

Tabella 6 – Variazioni stagionali della composizione del latte di caldaia: distribuzione del fosforo e dell'acido citrico e contenuto di cloruri (mg/100g). Media±DS**Table 6** – Seasonal variations of vat milk composition: distribution of phosphorus and citric acid and chloride content (mg/100g). Mean ± SD

	N	Inverno <i>Winter</i>	Primavera <i>Spring</i>	Estate <i>Summer</i>	Autunno <i>Autumn</i>	TOTALE <i>TOTAL</i>	P
P totale <i>Total P</i>	72	89,6± 4,6	91,4± 4,9	88,6±2,8	91,3± 2,7	90,4± 4,0	ns
P solubile <i>Soluble P</i>	72	42,3± 2,3 ^{ab}	43,8± 2,8 ^c	40,8±1,5 ^a	43,0± 2,5 ^{bc}	42,8± 2,6	**
P colloidale <i>Colloidal P</i>	72	46,3± 2,9	46,6± 3,9	46,8±3,1	47,3± 3,0	46,7± 3,2	ns
P coll. inorg. <i>Coll. inorg. P</i>	72	26,1± 1,3 ^{ab}	26,6± 2,9 ^b	26,7±2,5 ^b	25,0± 1,8 ^a	23,0± 2,1	*
P caseina <i>Casein P</i>	72	20,2± 2,5 ^a	19,9± 2,0 ^a	20,1±2,0 ^a	22,2± 2,2 ^b	20,6± 2,3	**
Ac. citrico totale <i>Total citric acid</i>	72	167,8±15,7 ^a	177,0±13,5 ^b	163,6±6,8 ^a	165,1±10,4 ^a	169,2±13,5	***
Ac. citrico sol. <i>Soluble citric ac.</i>	72	158,3±14,7 ^a	165,0± 9,4 ^b	154,9±4,7 ^a	157,0± 9,6 ^a	159,3±11,2	**
Ac. citrico coll. <i>Coll. citric acid</i>	72	9,5± 3,1 ^a	12,0± 6,5 ^b	8,6±3,5 ^a	8,2± 2,5 ^a	10,0± 4,4	*
Cloruri (Cl ⁻) <i>Chloride</i>	72	109,5± 6,6 ^b	102,1± 8,9 ^a	109,0±7,5 ^b	109,0± 4,7 ^b	106,9± 7,6	**

a, b, c, differiscono per $P < 0,05$; a, b, c, differ for $P < 0,05$
 ns, $P > 0,05$; *, $P \leq 0,05$; **, $P \leq 0,01$; ***, $P \leq 0,001$

Tabella 7 – Variazioni stagionali di acidità, pH, caratteristiche di coagulazione e proprietà reologiche. Media±DS

Table 7 – Seasonal variations of titratable acidity, pH, rennet-coagulation and rheological properties. Mean ± SD

	N	Inverno <i>Winter</i>	Primavera <i>Spring</i>	Estate <i>Summer</i>	Autunno <i>Autumn</i>	TOTALE <i>TOTAL</i>	P
Acidità, °SH/50ml <i>Titratable acidity</i>	72	3,12±0,14 ^a	3,33±0,18 ^c	3,20±0,07 ^{ab}	3,24±0,12 ^b	3,22±0,16	****
pH <i>pH</i>	62	6,70±0,07 ^a	6,75±0,05 ^b	6,72±0,03 ^b	6,73±0,03 ^b	6,72±0,05	***
r, min <i>Clotting time</i>	62	20,1± 2,4 ^b	17,4± 2,8 ^a	22,7± 2,6 ^c	19,6± 1,5 ^b	19,7±2,8	****
k ₂₀ , min <i>Curd firming time</i>	62	12,5± 4,3 ^{ab}	10,7± 4,1 ^a	13,8± 3,8 ^b	10,7± 1,6 ^a	11,8±3,7	*
a ₃₀ , mm <i>Curd firmness a₃₀</i>	72	19,6± 8,4 ^b	25,6±11,0 ^c	11,0± 6,7 ^a	20,2± 4,8 ^b	19,7±9,2	****
a _{1/2r} , mm <i>Curd firmness a_{1/2r}</i>	58	18,6± 5,8	19,6± 5,4	17,9± 4,4	19,2± 2,6	18,5±4,6	ns
Resist. compr., g <i>Resist. to compr.</i>	58	28,3± 3,8 ^b	28,7± 4,4 ^b	23,8± 3,9 ^a	30,8± 4,9 ^b	28,3±5,1	**
Resist. taglio, g <i>Resist. to cut</i>	58	47,2±18,1 ^a	61,9±13,2 ^b	53,4±10,1 ^{ab}	57,5±15,0 ^b	54,6±15,7	*

a, b, c, differiscono per P<0,05; a, b, c, differ for P<0.05

ns, P>0,05; *, P≤0,05; **, P≤0,01; ***, P≤0,001; ****, P≤0,0001

Tabella 8 – Variazioni stagionali delle caratteristiche del siero cotto. Media±DS
Table 8 – Seasonal variations of cooked whey characteristics. Mean ± SD

	N	Inverno <i>Winter</i>	Primavera <i>Spring</i>	Estate <i>Summer</i>	Autunno <i>Autumn</i>	TOTALE <i>TOTAL</i>	P
N tot., mg/100g <i>Total nitrogen</i>	72	131,2±8,9 ^a	132,0±9,8 ^a	134,6±7,6 ^{ab}	139,1±6,4 ^b	134,2±8,8	*
P tot., mg/100g <i>Total phosphorus</i>	72	44,6±1,9 ^b	45,3±2,4 ^b	43,1±1,0 ^a	45,0±2,0 ^b	44,7±2,1	*
Ca tot., mg/100g <i>Total calcium</i>	72	39,6±1,7	39,3±2,0	38,9±1,9	39,8±2,3	39,6±2,0	ns
Mg tot., mg/100g <i>Total magnesium</i>	72	8,1±0,4 ^b	8,2±0,4 ^b	7,9±0,3 ^a	8,5±0,4 ^c	8,2±0,4	**
Grasso, g/100g <i>Fat</i>	72	0,42±0,07 ^a	0,46±0,09 ^b	0,41±0,04 ^a	0,51±0,10 ^c	0,44±0,09	***
Acidità, °SH/50ml <i>Titrate acidity</i>	52	2,68±0,17 ^a	2,71±0,18 ^a	2,60±0,01 ^a	2,87±0,26 ^b	2,75±0,22	***

a, b, c, differiscono per $P < 0,05$; a, b, c, differ for $P < 0,05$
 ns, $P > 0,05$; *, $P \leq 0,01$; **, $P \leq 0,01$; ***, $P \leq 0,001$

ZOOTECNIA BIOLOGICA, PARMIGIANO REGGIANO E UNIFEED: ASPETTI ECONOMICI E QUALITATIVI NELLA PRODUZIONE DI LATTE*

A. Salghetti, E. Manghi**

1. Introduzione

Negli ultimi decenni l'evoluzione nei livelli produttivi della vacca da latte ha avuto del prodigioso. I risultati ottenuti sono stati di rilievo sia nei riguardi della quantità che della qualità produttiva grazie alla sinergica interazione tra il miglioramento genetico degli animali e l'evoluzione delle tecniche di alimentazione e di allevamento.

Il progresso nelle conoscenze sulla fisiologia della vacca da latte e la loro applicazione nell'alimentazione ha rappresentato senz'altro una delle materie di maggiore studio e ricerca per giungere ad un'ottimale razionalizzazione dell'allevamento bovino.

L'introduzione della tecnica del piatto unico o unifeed ha certamente costituito una tappa molto importante nella gestione organizzativa ed alimentare per gli allevamenti della vacca da latte italiani. Tale tecnica, ideata negli Stati Uniti verso la metà degli anni '30, ha potuto svilupparsi appieno e diffondersi solo dopo i progressi della meccanizzazione aziendale che ha messo a disposizione degli allevatori le attrezzature necessarie alla manipolazione degli alimenti zootecnici con lo scopo di miscelarli (carrì miscelatori).

In Italia, in particolare, l'unifeed si è sviluppato solo alla fine degli anni '60; inizialmente ha riguardato esclusivamente le aziende con bovini da carne dove esisteva il problema del prelievo e della distribuzione di notevoli quantità di silomais impiegate; il carro miscelatore era molto semplice, a coclee orizzontali sprovviste di lame in quanto destinate alla sola miscelazione di foraggi già trinciati, con l'aggiunta di concentrati e/o farine.

Negli allevamenti da latte l'unifeed apparve solo a cavallo degli anni '70-'80, quando i successi delle sperimentazioni vinsero la diffidenza nei confronti di tale tecnica e i carrì miscelatori si dotarono di lame per la trinciatura del fieno il cui utilizzo costituiva all'epoca una regola indiscutibile, successivamente trasgredita dalla diffusione di valide razioni ottenute principalmente con insilati. Oggi l'unifeed rappresenta una nuova possibilità nel campo dell'alimentazione delle vacche che ha

* Lavoro eseguito con finanziamento FIL (ex quota 60%). Lo studio è frutto di un lavoro comune dei due autori. Tuttavia in sede di stesura del testo Andrea Salghetti ha redatto i paragrafi 2, 5, 6, 7; mentre Elisa Manghi ha redatto i paragrafi 1, 3, 4.

** Sezione di Risorse del Territorio, Dipartimento di Salute Animale, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Parma.

cambiato radicalmente le operazioni di stalla e che ha richiesto un'analogia svolta anche al momento di coltivare i foraggi.

A cavallo poi degli anni '80-'90 la tecnica del piatto unico ha suscitato un certo interesse ed ha avviato un ampio dibattito anche nel comprensorio del formaggio Parmigiano Reggiano, dove, essendo vietati gli insilati, il piatto unico deve essere preparato con foraggi essiccati, che costituiscono la base della razione alimentare delle vacche da latte e uno degli elementi su cui si basa il legame del prodotto con il territorio. Le riserve alla sua introduzione nel comprensorio erano legate in passato alla preoccupazione di compromettere la qualità e la tipicità di un formaggio unico al mondo. Preoccupazioni particolarmente sentite anche per le produzioni biologiche, pure interessate ad ottenere alimenti di alta qualità e salubrità.

2. Finalità e metodologia

Le finalità della ricerca sono rivolte alla comprensione degli elementi critici, sotto il profilo degli effetti economici e della qualità del latte, che accompagnano l'introduzione di un investimento complesso come il carro miscelatore in imprese biologiche operanti nel comprensorio di produzione del formaggio Parmigiano Reggiano.

Per la quantificazione degli effetti economici ci siamo avvalsi delle rilevazioni contabili aziendali che ci hanno consentito di redigere il bilancio economico, con l'individuazione delle poste positive e negative, per conoscere l'entità del reddito netto.

Successivamente è stato calcolato il costo di produzione del latte partendo dal costo totale dell'azienda, a questo è stata applicata la teoria del Proni per l'individuazione dei costi delle produzioni secondarie. Dalla differenza tra costo totale e costi delle produzioni secondarie è stato ottenuto il costo del latte, che rappresenta la produzione principale dell'azienda.

Le rilevazioni hanno interessato un periodo di sei anni, comprendente un primo biennio (1995-1996) nel quale l'alimentazione del bestiame avveniva nel modo tradizionale e da un successivo periodo di quattro anni (1997-2000) nel quale è stato introdotto il metodo di alimentazione unifeed.

Dal confronto dei risultati conseguiti nei due periodi si è cercato di quantificare gli effetti economici prodotti dalla introduzione dell'unifeed. Successivamente i risultati economici sono stati confrontati con quelli di un gruppo di allevamenti di riferimento, senza unifeed, per verificarne gli scostamenti. I valori vengono espressi in lire correnti, secondo la moneta in corso all'epoca delle rilevazioni.

Nello stesso periodo è stata tenuta sotto controllo anche la qualità del latte, sulla scorta delle analisi di laboratorio per il pagamento del latte a qualità. La raccolta dei dati sulla qualità del latte ha interessato l'allevamento sotto controllo e tutti gli altri allevamenti aderenti al caseificio. Pertanto i confronti hanno interessato la qualità del latte dell'allevamento nei due sotto-periodi considerati e la qualità del latte dell'allevamento nei confronti degli altri allevamenti aderenti al caseificio che hanno mantenuto il metodo di alimentazione tradizionale.

3. La tecnica dell'unifeed

La tecnica unifeed -dall'inglese *unique feed*, alimento unico- è basata sulla somministrazione di una miscela omogenea di foraggi e di mangimi necessari a coprire interamente i fabbisogni nutritivi dell'animale; la somministrazione è effettuata *ad libitum*, mediante l'ausilio di appositi carri miscelatori. Tale tecnica, benché sia nata per aziende zootecniche che utilizzano i foraggi insilati, ha avuto un certo interesse anche nel comprensorio del Parmigiano Reggiano, dove, come già detto, il piatto unico deve essere preparato con foraggi essiccati.

L'introduzione di questo innovativo sistema di alimentazione delle bovine da latte è stato dapprima guardato con una certa diffidenza dal Consorzio di produzione, per il timore che potesse in qualche modo minare le peculiarità organolettiche e nutrizionali del formaggio, ma poi, dopo una prima fase di sperimentazione conclusa positivamente, il Consorzio ha giudicato l'alimentazione mediante piatto unico compatibile con la produzione del Parmigiano Reggiano ed ha inserito questa tecnica nel nuovo regolamento di alimentazione delle bovine. Restando comunque validi i consolidati consigli alimentari legati al rispetto della tradizione e della genuinità, è confermato il divieto nei confronti degli insilati. Il Regolamento per l'alimentazione delle bovine, infatti, resta molto rigido da questo punto di vista: non solo è vietato l'impiego di ogni tipo di insilato, ma ne è vietata pure la semplice detenzione in azienda.

La tecnica del piatto unico presenta, rispetto all'alimentazione tradizionale, vantaggi di carattere organizzativo soprattutto a livello zootecnico: migliore gestione e controllo dell'alimentazione, maggiore meccanizzazione, specie nei grossi allevamenti, minore impiego di manodopera, migliore e maggiore utilizzo dei sottoprodotti aziendali e/o industriali e vantaggi di ordine alimentare-fisiologico, in quanto l'animale può alimentarsi in maniera migliore e più equilibrata. In particolare si ha un aumento dell'ingestione volontaria di alimenti in virtù della trinciatura dei fieni e della maggiore appetibilità della miscelata, una migliore modulazione delle fermentazioni ruminali (minor variazione del pH ruminale), con conseguente possibilità di formulare razioni a più elevata concentrazione energetica senza innescare processi fermentativi anomali nel rumine e senza deprimere le fermentazioni dei batteri cellulolitici. Sul piano pratico ciò si traduce in un aumento della produzione di latte con maggiore persistenza della curva di lattazione; il latte inoltre è più ricco di lipidi e spesso anche di proteine. Dal punto di vista sanitario si osserva una riduzione delle forme di chetosi, di acidosi, di mastiti, malattie podaliche e infertilità. Le bovine inoltre perdono meno peso all'inizio della lattazione e le primipare hanno un maggiore peso quando arrivano a fine lattazione.

Pare tuttavia opportuno sottolineare che questi vantaggi sono ottenibili solo mediante un continuo ed attento controllo di tutte le fasi di preparazione della miscela: selezione della razione, operazioni di pesatura, miscelazione e distribuzione della razione, registrazione dei residui di mangiatoia. Gestire al meglio l'alimentazione a piatto unico non è infatti sempre facile. Gli errori sono all'ordine del giorno e possono compromettere la qualità del latte e quindi del formaggio. Per un corretto approccio all'unifeed è pertanto opportuno attenersi ad alcune regole che prevedono

una grande attenzione a livello della coltivazione dei foraggi: qualità e sanità del foraggio sono infatti condizione necessaria per una buona tecnica unifeed.

Ci sono poi tanti accorgimenti che devono essere presi in fase di preparazione della razione: un'eccessiva macinazione dei foraggi ad esempio riduce la disponibilità di fibra effettiva e predispone gli animali all'acidosi ruminale, una carenza di macinazione invece rende possibile la separazione della quota foraggera dal resto della miscela e offre quindi all'animale la possibilità di operare una scelta fra i componenti della razione con conseguenze spesso legate ai cali di ingestione di sostanza secca, alle alterazioni della qualità del latte, dell'attività ruminale e della consistenza delle feci, e ai problemi podalici.

Concludendo possiamo vedere come questa tecnica risulti particolarmente vantaggiosa solo se vengono rispettate tutte le regole che lo stesso Consorzio di tutela suggerisce nel Regolamento delle bovine.

La convenienza nell'utilizzo del piatto unico dipende anche dalle dimensioni aziendali in quanto si hanno maggiori vantaggi quando le aziende sono grandi perché l'unifeed impone la formazione di gruppi di animali con caratteristiche metaboliche simili. In una stalla sono contemporaneamente presenti infatti animali in asciutta, inizio lattazione, media lattazione e fase avanzata di lattazione e ciò comporta esigenze energetiche differenti, quindi è indispensabile la formazione di gruppi, in genere tre (uno per le vacche fresche, cioè dal parto fino ai 150 giorni dalla lattazione, uno per le vacche stanche, cioè dai 150 giorni a fine lattazione e uno per le vacche asciutte e le manze gravide) e ciò comporta l'utilizzo di tre carri miscelatori o tre preparazioni successive, che per un'azienda piccola diventa una spesa eccessiva.

Se l'allevamento non possiede un numero superiore ad almeno 50 capi adulti la tecnica del piatto unico diventa antieconomica in quanto è difficile razionare gli animali in base al loro stadio fisiologico. Infatti, impostare un carro unifeed per ogni gruppo omogeneo di animali sarebbe assurdo e se provassimo ad alimentare tutte le bovine con lo stesso carro unifeed si verificherebbero grossi squilibri: le bovine che hanno maggiori necessità di energia e di proteine sono infatti quelle che hanno anche meno appetibilità, mentre le vacche stanche sono anche quelle che tendono ad ingerire maggiori volumi e in caso di distribuzione non differenziata del piatto unico finirebbero per assumere quantitativi di proteine e di energia in più rispetto al proprio fabbisogno con conseguenza possibilità di mastite, di ingrassamento, di difficoltà nel parto e nel post parto, problemi che si ripercuoterebbero nella lattazione successiva.

Altro limite legato alle dimensioni aziendali è la maggiore specializzazione richiesta dell'allevatore e del personale addetto in quanto un minimo errore alimentare o organizzativo può comportare grossi danni alla fisiologia della vacche.

4. Il carro trinciamiscelatore

Il successo della tecnica unifeed ha determinato una notevole diffusione del carro trinciamiscelatore. E' a questa macchina che l'allevatore affida la preparazione delle razioni, le quali, sempre più spesso, sono definite in modo molto accurato con l'ausilio dell'alimentarista e del calcolatore.

La scelta e il corretto uso del carro miscelatore appare cruciale soprattutto per la notevole diversificazione delle tipologie di allevamento che ne fanno uso e per la vasta offerta attuale, se si pensa che, solo in Italia, sono presenti circa trenta costruttori con una produzione di quasi 4.000 unità.

Il carro miscelatore ha dovuto adattarsi ad una grande polivalenza d'impiego nel tentativo di assicurare miscele uniformi a partire da una crescente gamma di alimenti. Questa macchina infatti si è diffusa in realtà produttive notevolmente diversificate, comprendenti le grandi aziende di pianura che adottano massicciamente i foraggi insilati, le piccole stalle di montagna che fanno largo ricorso ai fieni o all'erba-silo e, recentemente, le aziende che utilizzano razioni senza insilati per la produzione di latte per Parmigiano Reggiano.

Il carro trinciamiscelatore deve consentire il rapido carico di un'ampia gamma di prodotti, possibilmente da tutti i lati liberi del cassone e, se autocaricante, deve effettuare autonomamente tale operazione. Deve trinciare uniformemente i foraggi a stelo lungo, senza nel contempo ridurne eccessivamente la lunghezza, che non dovrebbe risultare inferiore ai 20 mm; deve inoltre effettuare la pesatura di ogni singolo ingrediente caricato con sufficiente precisione. Ciò che è stato pesato viene raccolto nel cassone, il cuore della macchina, dove le varie componenti sono miscelate e trinciate. Infine il carro deve poter scaricare uniformemente il prodotto miscelato, possibilmente da entrambi i lati, consentendo di regolare le quantità scaricate e di eseguire il completo svuotamento del cassone.

Negli ultimi anni le tipologie costruttive si sono molto diversificate nell'ottica di soddisfare in modo sempre più mirato le esigenze crescenti degli allevatori; oggi in particolar modo sono principalmente in uso i carri miscelatori semoventi il cui costo è divenuto economicamente sostenibile a causa dell'aumento della dimensione media delle mandrie, dato anche il progressivo ricambio dei modelli trainanti più vecchi negli allevamenti sopra i 120-150 capi. La peculiarità del carro trinciamiscelatore semovente risiede nel fatto che questa tipologia di macchina deve poter compiere in modo rapido, preciso ed efficiente tutta una serie di operazioni, spesso contrastanti tra loro, in ambienti di lavoro confinati, a volte angusti e stretti, dove la precisione, la facilità e la sicurezza di guida devono essere elementi di primaria importanza.

Oggi le macchine agricole destinate alle produzioni zootecniche, tra le quali i carri miscelatori, manifestano un trend in crescita, favorito dal progressivo allargamento delle dimensioni delle mandrie e dalla spinta meccanizzazione al fine di godere delle economie di scala, strategia vincente nella corsa alla riduzione dei costi.

5. Le rilevazioni aziendali

5.1 Premessa

Le ripercussioni sull'azienda dell'introduzione del carro miscelatore non si limitano all'acquisto dell'attrezzatura, in quanto tale operazione comporta spesso anche l'adeguamento delle strutture edilizie con ulteriori investimenti di capitale,

l'espansione della capacità produttiva con ulteriori investimenti per l'acquisto di nuove *quote latte* ecc.

La stessa organizzazione aziendale richiede modifiche radicali per quanto riguarda il sistema di foraggiamento e di alimentazione, che a loro volta condizionano i cantieri di lavoro in campagna e l'abbandono della raccolta di erba, perché tutta l'alimentazione possa avvenire con foraggi essiccati. Da qui l'abbandono delle attrezzature di raccolta dell'erba, di quelle necessarie per lo srotolamento dei balloni ecc.

Pertanto la complessità dei riflessi prodotti dal metodo unifeed sull'organizzazione aziendale, sulle strutture, sul lavoro ecc. richiede che i risultati vengano valutati nel loro insieme.

La valutazione della convenienza economica dell'investimento in termini di incremento di reddito, presuppone che nel periodo in esame non abbiano ad interferire congiunture mercantili favorevoli o sfavorevoli. Nel primo caso avremmo una sopravvalutazione della convenienza economica, nel secondo caso potremmo ottenere anche una riduzione del reddito, anziché un aumento. A meno che il confronto non venga effettuato tra il calo del reddito senza unifeed e il calo del reddito con unifeed, alla ricerca della riduzione minore.

Ed è proprio il nostro caso. Infatti nel periodo esaminato la congiuntura di mercato del comparto lattiero-caseario è stata decisamente sfavorevole per gli allevatori, con una riduzione del prezzo del latte e quindi del reddito aziendale.

Si ritiene pertanto più corretto, come in tutti i casi d'investimenti di rimodernamento (Giacomelli, 1995), che la valutazione di convenienza economica possa essere semplificata dall'analisi della riduzione dei costi. In questo modo è possibile escludere gli effetti congiunturali sul prezzo del latte. Ed è il percorso che abbiamo seguito.

5.2 Le caratteristiche strutturali

L'allevamento sotto controllo è stato seguito sotto l'aspetto contabile nel corso di sei anni, per mettere in luce i cambiamenti strutturali ed economici in conseguenza all'introduzione del metodo di alimentazione con l'unifeed.

Le caratteristiche strutturali sono alla base delle risultanze economiche. La struttura dell'azienda è identificabile dalla composizione dei fattori della produzione: capitale fondiario, capitale agrario e lavoro. Iniziamo ad esaminare il primo dei fattori della produzione: il capitale fondiario.

Nel 1995 l'azienda aveva una superficie complessiva di 132 ettari, di cui 67 ettari di SAU. La superficie rimanente era rappresentata dai boschi, essendo il fondo collocato in collina. La parte di terra in proprietà era di 32 ettari e non ha subito variazioni nel periodo.

L'ampliamento della superficie nel 2000 è avvenuta grazie all'acquisizione di terreno in affitto, per far fronte al fabbisogno di foraggio necessario all'ampliamento della mandria e per ridurre la dipendenza dell'azienda dal mercato dei foraggi. Infatti la nuova superficie si riferisce alle colture foraggere che sono aumentate di un terzo, raggiungendo il 94% della SAU.

Gli investimenti nei miglioramenti fondiari per ettaro di superficie in proprietà confermano l'impegno dell'imprenditore a dotarsi di strutture moderne ed efficienti. Nel 1995 i valori si attestavano sui 25 milioni di lire all'ettaro; nel 1996-1997, in corrispondenza dell'introduzione dell'unifeed, sono stati apportati ulteriori miglioramenti ed adattamenti ai fabbricati con un investimento di altri 96 milioni di lire complessive, resisi necessari a causa dell'introduzione del carro miscelatore e delle altre attrezzature che hanno richiesto nuovi spazi, allacciamenti idraulici, elettrici ecc.

Anche per il capitale agrario gli investimenti sono cospicui e in continua crescita. Si parte da un valore di 9,9 milioni di lire per ettaro SAU nel 1995; nel 1997, in corrispondenza all'acquisto del carro miscelatore e delle altre attrezzature connesse all'innovazione, all'ampliamento della mandria ecc., il capitale agrario è aumentato di altri 192 milioni di lire. Nel 2000 osserviamo un leggero calo della consistenza del capitale agrario per unità di superficie (-5%). In realtà, in termini assoluti osserviamo una crescita del 25%, che venendo diluita su una superficie più estesa del 31% porta ad una riduzione del valore unitario.

Per addetto familiare l'impegno negli investimenti risulta ancora più marcato: si parte con 157 milioni di lire nel 1995 per arrivare a 197 milioni di lire nel 2000 (+25%). Mediando i valori dei due sottoperiodi, 1995-1996 e 1997-2000, la crescita risulterebbe ancora maggiore.

Nella ripartizione del capitale agrario osserviamo che, nel 1995, la componente principale era rappresentata dal bestiame (44%), seguita dai prodotti di scorta e dal capitale di anticipazione (36%) ed infine dalle macchine (20%). Dopo sei anni la situazione vede prevalere le scorte e le anticipazioni, con il 45%, a scapito del bestiame, che scende al 38%, e delle macchine, che passano al 17%. Dalla tabella possiamo rilevare i valori medi anche dei due sottoperiodi, che confermano il trend dei due anni estremi.

Le macchine hanno fatto registrare una crescita di valore nel 1997 con l'introduzione del carro miscelatore e di altre attrezzature, con una spesa di 87 milioni di lire, per poi scendere progressivamente in coerenza con il deperimento commisurato alle quote di ammortamento. Anche la potenza motrice impegnata è stata aggiornata verso l'alto con l'acquisto di un trattore di 100 cavalli, funzionale all'uso del carro miscelatore di tipo trainato, per poi stabilizzarsi negli anni successivi.

Acquista invece maggiore importanza nel 2000 la voce "anticipazioni" sul capitale agrario, sia in valore assoluto, con una crescita del 71%, sia come incidenza percentuale (+8%). Il fabbisogno finanziario dell'impresa, per fare fronte alle crescenti spese di gestione legate agli acquisti sul mercato, richiama l'esigenza di ampliare le anticipazioni monetarie sulla produzione.

La consistenza del bestiame, pure in crescita numerica, è stata penalizzata in valore dalla contrazione dei prezzi di mercato dei capi. In effetti la dimensione della mandria è cresciuta del 16% come capi grossi e di ben il 42% come vacche.

La crescita maggiore delle vacche è stata rilevata proprio in coincidenza dell'introduzione dell'unifeed, che ha consentito, a parità di lavoro impiegato, di accudire ad un maggior numero di vacche: da 25 vacche per addetto nel 1995 si è passati a 36 vacche nel 2000. La crescita numerica delle vacche è andata anche a

scapito dei capi da ingrasso che hanno perso di interesse per l'allevatore.

L'imprenditore ha privilegiato la produzione di latte, emarginando la produzione di carne, per valorizzare l'introduzione della carro miscelatore con un migliore sfruttamento delle strutture e delle macchine ed una migliore organizzazione e semplificazione della gestione aziendale. L'allevatore ha provveduto quindi alla suddivisione della mandria in tre gruppi omogenei in funzione della produttività.

Per quanto riguarda il carico di bestiame per ettaro a colture foraggere la pressione è diminuita, perché a fronte di una crescita dei capi ha corrisposto anche una crescita più che proporzionale della superficie. Si parte da 2,4 capi grossi per ettaro a foraggere per scendere a 2,1.

L'azienda si avvale del solo lavoro familiare, con 4,2 unità lavoratrici a tempo pieno, per tutto il periodo dell'indagine. Il carico di lavoro si è mantenuto costante nonostante l'ampliamento della mandria, grazie all'introduzione del carro miscelatore che ha consentito di ridurre i tempi di lavoro per capo e quindi di ampliare la dimensione della mandria a parità di lavoro.

Tab. 1 – *Caratteristiche strutturali dell'azienda*

DESCRIZIONE	Unità di misura	ANNO			MEDIA DEL PERIODO		
		1996	1997	Variazione %	1995 1996	1997 2000	Variazione %
Superficie Agricola Totale (SAT)	ha	132	151	14,4	132	152	15,2
Superficie Agricola Utile (SAU)	ha	67	83	23,9	67	84	25,4
SAT in proprietà	ha	32	32	-	32	32	-
Superficie Foraggera (SAUF)/SAU	%	85	91	7,1	88	89	1,1
Unità Lavoratrici (ULU)	n	4,2	4,2	-	4,2	4,2	-
SAU/ULU	ha	16,0	19,8	23,8	16,0	20,0	25,0
Potenza macchine/SAU	HP	400	500	25,0	400	500	25,0
Potenza macchine/ULU	HP	95	119	25,3	95	119	25,3
Miglioramenti fondiari	000lire	743.861	738.610	-0,7	765.649	717.815	-6,2
Capitale agrario/SAU	000lire	10.393	10.702	3,0	10.131	10.269	1,4
Capitale agrario/ULU	000lire	165.794	211.500	27,6	161.612	205.993	27,5
Macchine/Capitale agrario	%	21	22	4,8	21	20	-4,8
Bestiame/Capitale agrario	%	42	33	-21,4	43	36	-16,3
Scorte e ant./Capitale agrario	%	37	45	21,6	36	44	22,2
Capi grossi bovini	n	160	166	3,8	155	170	9,7
Vacche	n	125	135	8,0	115	141	22,6
Capi grossi bovini /SAUF	n	2,8	2,2	-21,4	2,6	2,3	-11,5
Capi grossi bovini /ULU	n	38,2	39,5	3,4	36,9	40,5	9,8
Vacche/ULU	n	29,8	32,1	7,7	27,4	33,6	22,6
Vacche/Capi grossi bovini	%	77,9	81,3	4,4	74,3	83,1	11,8

La valorizzazione del lavoro avviene non solamente con la crescita del numero di capi sottesi ad ogni lavoratore, ma anche grazie all'ampliamento della superficie lavorata. Infatti il grado di attività è passato da 16 ettari SAU del 1995 a 21 ettari SAU del 2000, con un incremento del 31%. Le nuove tecnologie richiedono

personale più qualificato e responsabile, ma nello stesso tempo consente di ridurre la fatica fisica delle operazioni e di migliorare la qualità della vita dei lavoratori.

La riduzione dei tempi di lavoro in azienda, per l'abolizione dell'erba come alimento zootecnico, comporta un incremento dei tempi e degli impegni riguardanti la fienagione, nonché una riduzione del valore alimentare della produzione foraggera, causata dalle perdite di raccolta e dalla necessità di tenere più sollevata la barra falciante per ridurre la presenza di terra che andrebbe ad inquinare il foraggio.

In definitiva, l'introduzione di nuove tecnologie nell'allevamento, quali l'unifeed, è funzionale al perseguimento delle economie di scala, che consentono di valorizzare al meglio il lavoro familiare disponibile, procrastinando nel tempo il ricorso al lavoro salariato. La famiglia dell'imprenditore ha difficoltà oggi ad assicurare i fabbisogni di lavoro correlati all'ampliamento della mandria, operazione per altro inevitabile per mantenere il passo con lo sviluppo e godere delle economie di scala. A parità di lavoro disponibile non rimane che l'innovazione tecnologica e la sostituzione del lavoro con il capitale.

5.3 I risultati economici

Le rilevazioni contabili del periodo 1995-2000 ci hanno consentito la redazione del bilancio economico e successivamente di calcolare il costo di produzione del latte. Lo scopo è sempre quello di differenziare e comparare i risultati economici aziendali tra i due periodi: prima e dopo l'introduzione dell'unifeed.

I valori espressi in lire correnti non sono esaustivi dell'evoluzione dei risultati ottenuti dalle scelte imprenditoriali, per la forte interferenza dei prezzi, in particolare per la congiuntura sfavorevole del mercato lattiero-caseario nel periodo esaminato.

Pertanto assumono maggior peso le variazioni delle quantità fisiche, meglio correlate con i cambiamenti in corso. Infatti se dovessimo esaminare il valore della produzione rimarremmo delusi dai risultati conseguiti, perché dopo sei anni i ricavi invece che aumentare si sono ridotti dell'8% a lire correnti. Tale fenomeno non viene evidenziato dal confronto tra i due sottoperiodi, perché nella media acquistano maggiore peso i ricavi degli anni intermedi, che sono risultati più elevati, compensando il calo dell'ultimo anno.

La causa principale è il prezzo del latte che ha subito una contrazione del 43%, partendo da 122.680 lire il quintale nel 1995 per arrivare a 70.000 lire il quintale nel 2000. A compensare la riduzione del prezzo del latte non è stata sufficiente la crescita del 52% della produzione misurata in quintali.

In termini di potere d'acquisto della lira, le 70.000 lire correnti del 2000 corrisponderebbero a 61.000 lire costanti del 1995, perché il potere d'acquisto della lira è calato del 13% nel periodo. Tenendo conto di questo presupposto, il prezzo del latte a lire costanti nel 2000 sarebbe quindi calato del 50% rispetto al 1995.

Molto significativa è la crescita della produzione fisica del latte tra il 1996 e il 1997, grazie allo stretto controllo dell'alimentazione e al migliorato benessere degli animali. La crescita di produttività per capo del 18% in un anno è strettamente legata ad una migliore alimentazione ed alla salubrità degli animali grazie all'introduzione dell'unifeed. Infatti, gli effetti del miglioramento genetico sulla produzione di latte

si possono ottenere solamente nel medio e lungo periodo. In valore assoluto il balzo della produzione è stato di 1.797 quintali (+27%) e come produzione per capo si è passati da 53,7 a 63,1 quintali (+18%), in corrispondenza all'introduzione del carro miscelatore. Solo nel 2000 si è avuta una inversione di tendenza che è stata comune a tutti i soci del caseificio a causa di errori nell'approvvigionamento dei mangimi da parte del caseificio.

Pertanto, a causa della riduzione del prezzo del latte, tutti i parametri di produttività espressi in lire, sia per ettaro che per unità lavoratrice, sono in calo, nonostante l'aumento delle quantità fisiche prodotte.

In un regime di produzione contingentata, quale è quella del latte, l'allevatore ha potuto aumentare la produzione grazie all'acquisto sul mercato di consistenti *quote latte*, con ulteriori esborsi di capitale.

Rimane confermato che in corrispondenza dell'introduzione dell'unifeed i risultati ottenuti come produzione fisica sono stati positivi, attenuando così almeno in parte i riflessi negativi della riduzione del prezzo del latte.

Tab. 2 – Risultati economici dell'azienda

DESCRIZIONE	Unità di misura	ANNO			MEDIA DEL PERIODO		
		1996	1997	Variazione %	1995 1996	1997 2000	Variazione %
PRODUZIONI							
Produzione Lorda Vendibile (PLV)	000lire	852.217	1.111.103	30,4	828.262	954.206	15,2
PLV/SAU	000lire	12.720	13.387	5,2	12.362	11.326	-8,4
PLV/ULU	000lire	202.908	264.548	30,4	197.205	227.192	15,2
PLV animale/PLV	%	91,9	92,5	0,7	92,3	89,3	-3,3
PLV vegetale/PLV	%	1,4	2,0	42,9	1,0	2,0	100,0
Altra PLV/PLV	%	6,7	5,5	-17,9	6,7	8,7	29,9
Contributi pubblici/PLV	%	5,6	5,2	-7,1	5,4	6,6	22,2
Latte/PLV	%	89,8	88,9	-1,0	88,9	84,8	-4,6
Latte/PLV animale	%	97,7	96,1	-1,6	98,6	95,6	-3,0
Latte	q	6.716	8.513	26,8	6.238	8.912	42,9
Latte/Vacche	q	53,7	63,1	17,5	54,1	63,1	16,6
SPESE							
Spese complessive	000lire	413.452	735.532	77,9	390.974	669.445	71,2
Spese specifiche per le colture	000lire	7.058	9.634	36,5	5.630	12.952	130,1
Spese specifiche per gli allevamenti	000lire	192.471	354.830	84,4	188.089	292.724	55,6
Mangimi/Capi grossi bovini	000lire	851	1.640	92,7	973	1.386	42,4
Foraggi/Capi grossi bovini	000lire	267	388	45,3	150	220	46,7
REDDITIVITA'							
Reddito netto aziendale	000lire	438.765	375.571	-14,4	437.288	284.760	-34,9
Reddito netto/SAU	000lire	6.548	4.525	-30,9	6.527	3.380	-48,2
Reddito netto/ULUF	000lire	104.468	89.422	-14,4	104.115	67.800	-34,9
Reddito netto/PLV	%	51,5	33,8	-34,4	52,8	29,8	-43,6
COSTO DEL LATTE							
Prezzo del latte	Lire/q	81.834	100.410	22,7	86.442	89.306	3,3
Prezzo del latte	Lire/q	113.964	116.000	1,8	118.322	91.050	-23,0
Profitto	Lire/q	32.130	15.590	-51,5	31.880	1.744	-94,5

Scarso peso rivestono le altre produzioni, rappresentate dalla carne quale produzione congiunta al latte, e dalle produzioni vegetali vendibili, che sono funzionali alla rotazione delle colture foraggere avvicendate. La specializzazione dell'allevamento verso la produzione del latte è sempre più spinta, con conseguente ampliamento delle colture foraggere, a scapito di quelle vendibili.

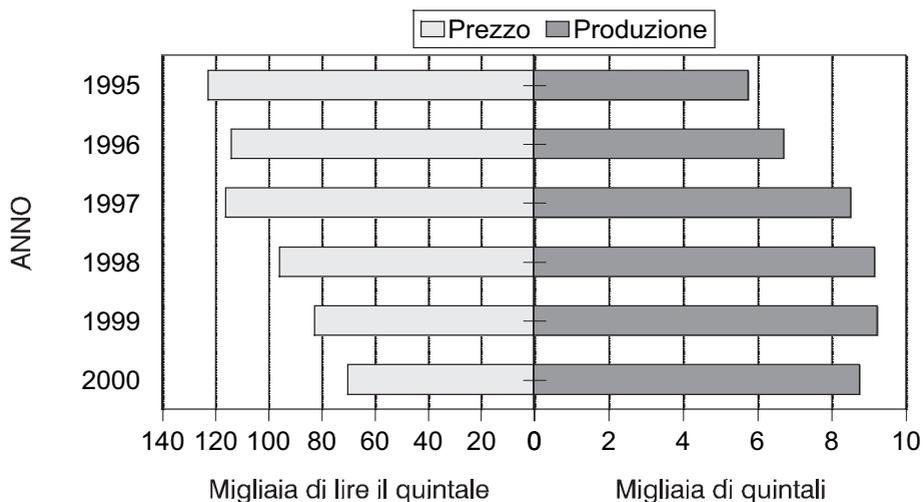
Una certa importanza sui ricavi assumono i contributi pubblici, in particolare quelli legati alle produzioni biologiche praticate dall'azienda, che da 40 milioni di lire del 1995 sono passati a 61 milioni di lire nel 2000.

Per quanto riguarda le spese complessive assistiamo ad una fase di crescita nei primi anni seguita da una fase di riduzione negli anni successivi. La fase di crescita è legata soprattutto agli adeguamenti strutturali in conseguenza dell'introduzione dell'unifeed ed all'ampliamento della mandria che ha richiesto maggiori spese per l'acquisto dei mangimi e dei foraggi sul mercato. La fase di contrazione delle spese coincide con l'allargamento della superficie a foraggere e quindi col minore fabbisogno di alimenti da acquistare sul mercato.

L'introduzione dell'unifeed ha fatto aumentare in un anno le spese per carburanti e lubrificanti del 47%; ciò era prevedibile visto che l'impiego del carro miscelatore assorbe notevoli energie e viene messo in funzione due volte al giorno, allo scopo di assicurare sempre un alimento fresco al bestiame, onde evitare quelle fermentazioni prodotte da una sola preparazione giornaliera che sarebbero nocive alla qualità del latte per Parmigiano Reggiano.

Trattandosi di azienda biologica le spese per i concimi sono alquanto limitate e sono assenti quelle per gli antiparassitari. Contenute sono anche le spese per i medicinali in relazione ai vincoli della normativa sui prodotti biologici di origine animale. Se le spese per il veterinario sono diminuite, si sono però aggiunte quelle per l'alimentarista e per le analisi dei foraggi, necessarie per monitorare costantemente l'alimentazione.

Graf. 1 - Prezzo e produzione del latte



Dalla tabella si possono rilevare le principali voci di entrata e di spesa che ci hanno consentito la determinazione del reddito netto aziendale, che rappresenta il compenso all'imprenditore e alla sua famiglia per i fattori produttivi immessi nell'impresa.

Il reddito netto conseguito dall'impresa ha subito un processo di contrazione continuo nel corso dei sei anni di rilevazione. Si è passati da 436 milioni di lire del 1995 a solo 165 milioni di lire del 2000 (-62%). Chiaramente la media dei due sottoperiodi attenua lo scarto messo in evidenza nei due anni estremi.

La congiuntura sfavorevole per i formaggi grana ha compromesso i redditi degli allevatori, avendo coinvolto tutto il comprensorio di produzione del formaggio Parmigiano Reggiano. La valorizzazione del formaggio biologico, con un riconoscimento di prezzo, non aveva ancora avuto modo di concretizzarsi, per i lunghi tempi necessari per la conversione della mandria al biologico e per quelli successivi, necessari alla produzione e alla successiva stagionatura del formaggio.

Il reddito poteva essere ancora inferiore di quello realizzato se non vi fosse stata l'azione di contrasto dell'imprenditore attraverso il miglioramento dell'efficienza aziendale, in questo caso con l'introduzione dell'unifeed, che ha consentito di realizzare delle economie di scala con la riduzione del costo di produzione del latte, che andiamo ad analizzare di seguito.

5.4 Il costo di produzione del latte

Per il calcolo del costo di produzione del latte è stato necessario aggiungere ai costi espliciti quelli impliciti relativi ai compensi per i fattori della produzione che ha portato l'imprenditore nell'azienda. L'attribuzione dei compensi è stata effettuata con il criterio dei prezzi di mercato per impieghi alternativi e concorrenti dei fattori produttivi. Dalla somma dei costi impliciti e di quelli espliciti, desunti dal bilancio economico, otteniamo il totale dei costi sostenuti dall'azienda.

Per discriminare il costo di produzione del latte, che rappresenta la produzione principale, da quello delle altre produzioni, che vanno considerate produzioni secondarie, abbiamo adottato, si ripete, la teoria del Proni, secondo la quale il costo delle produzioni secondarie può essere assunto pari ai relativi prezzi, nell'ipotesi che tali prodotti siano stati ottenuti in un mercato di perfetta concorrenza, tanto più che tali produzioni possono essere considerate marginali nel caso in esame, come si può desumere dalla loro incidenza percentuale sul totale della produzione.

I risultati ottenuti ci indicano che il costo di produzione del latte era di 91.050 lire il quintale nel 1995 per scendere a 81.183 lire il quintale nel 2000, con una contrazione del 11%. All'interno del periodo abbiamo assistito ad un aumento temporaneo del costo nel 1997, in corrispondenza con gli investimenti conseguenti all'introduzione del carro miscelatore, e con riduzioni negli anni successivi, grazie alla crescita della produzione di latte. Pertanto, dal confronto delle medie dei due sottoperiodi figura una crescita dei costi di produzione del latte per il peso che assumono gli anni intermedi.

Tenendo conto del processo inflattivo, il costo di produzione del latte nel 2000 a lire costanti corrisponde ad un importo di 70.629. Pertanto, a lire costanti, la

riduzione del costo del latte sarebbe stata del 22%.

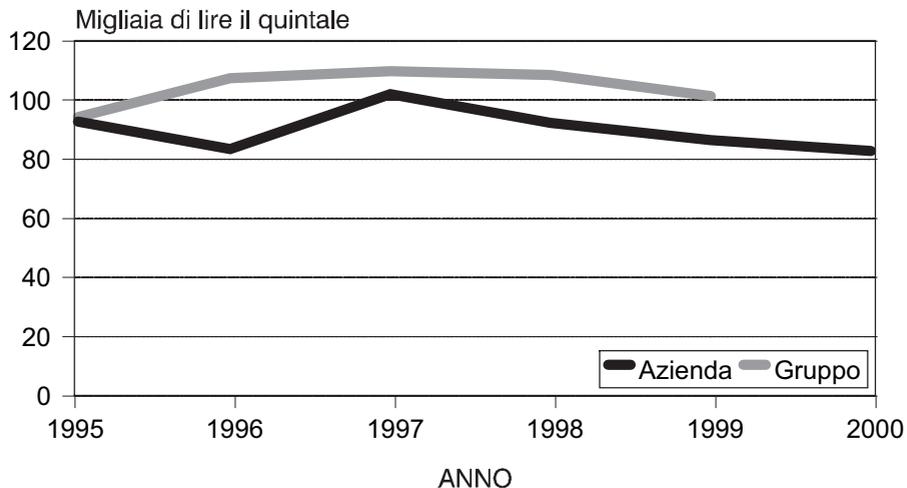
Le scelte dell'imprenditore hanno quindi prodotto gli effetti sperati in termini di riduzione del costo di produzione del latte. Gli sforzi sono stati annullati però dalla congiuntura sfavorevole del mercato del formaggio e quindi del latte, sul quale l'imprenditore singolo non ha poteri di intervento.

L'effetto positivo della manovra dell'imprenditore tuttavia, grazie alla riduzione dei costi, è stato quello di avere attenuato, almeno in parte, la riduzione del reddito, ciò che non è avvenuto in altri allevamenti che hanno risentito ancora più pesantemente di questa fase congiunturale sfavorevole.

Abbiamo poi confrontato il costo di produzione del latte realizzato dall'imprenditore con quello di un gruppo di allevamenti biologici studiati in una precedente ricerca (Salghetti, Bonazzi, 2001), dove era incluso anche il nostro allevamento che era l'unico ad avere introdotto l'unifeed. Il periodo di confronto è il quinquennio 1995-1999.

Come risulta dal grafico, il nostro allevamento è partito nel 1995 con un costo del latte leggermente inferiore a quello del gruppo (-2,6%), negli anni successivi si mantiene e si accresce il divario sino ad arrivare nel 1999 ad un costo del latte nell'allevamento inferiore del 19% rispetto al gruppo.

Graf. 2 - Costo di produzione del latte



L'introduzione del metodo unifeed ha avuto effetti positivi sulla riduzione del costo del latte nell'allevamento negli anni successivi alla sua introduzione, nonché nei confronti degli altri allevatori del gruppo di aziende biologiche prese a riferimento e sempre interessate alla produzione di latte biologico per Parmigiano Reggiano, ma senza l'adozione dell'unifeed negli anni considerati.

Purtroppo la riduzione del prezzo del latte ha penalizzato tutti gli allevatori; l'unica consolazione che rimane per l'allevamento che ha introdotto l'unifeed è di

essere stato in grado di contrastare, almeno in parte e con più efficacia degli altri allevatori, la crisi del mercato lattiero-caseario.

6. Unifeed e qualità del latte

Le peculiarità organolettiche e nutrizionali del formaggio Parmigiano Reggiano sono frutto di un complesso e delicato equilibrio di fattori tecnologici ed ambientali che si sono affermati in secoli di storia e che sono codificati nel disciplinare di produzione.

Il rispetto ed il rigore con cui è stato applicato il disciplinare di produzione in tutti questi anni non ha però mai impedito di valutare le innovazioni proposte dal progresso tecnologico. Così è stato anche quando si è prospettato l'uso del piatto unico nell'alimentazione delle vacche da latte. Infatti, il Consorzio ha ritenuto opportuno effettuare una lunga fase di sperimentazione per valutare gli effetti del suo utilizzo sulla qualità del latte, sulla tecnologia di caseificazione e sulle caratteristiche qualitative del formaggio.

Per quanto riguarda l'attitudine alla caseificazione non sono state evidenziate differenze significative nei due tipi di alimentazione delle bovine. Infine dall'esame sensoriale è emersa unicamente una leggera differenza relativa al colore del formaggio che è risultato leggermente più marcato nel formaggio ottenuto con latte proveniente da bovine alimentate in modo tradizionale, in considerazione dell'utilizzo del foraggio verde nella razione.

Alla luce dei risultati di questa ricerca il Consorzio di tutela ha giudicato l'alimentazione mediante piatto unico compatibile con la produzione di Parmigiano Reggiano ed ha inserito questa tecnica nel nuovo Regolamento di alimentazione delle bovine, dove sono state fissate rigide regole produttive affinché venga messa in atto in modo corretto. Il piatto unico, infatti, più ancora dell'alimentazione tradizionale, richiede agli allevatori professionalità e capacità gestionale per poterne cogliere tutte le potenzialità, senza compromettere la qualità, l'attitudine casearia del latte e le caratteristiche di pregio del Parmigiano Reggiano.

La valutazione delle caratteristiche qualitative del latte trae origine dal sistema di pagamento del latte secondo la qualità, che è stato portato avanti da un programma sostenuto dalla regione Emilia-Romagna e che ha avuto il suo decollo con l'emanazione della legge 306/75, che prevede appunto la retribuzione differenziata del latte secondo qualità.

La retribuzione del latte a qualità è oggi una prassi generalizzata nel comprensorio di produzione del formaggio Parmigiano Reggiano, e non solo, e rappresenta un adeguato riconoscimento ai produttori per l'impegno profuso nel raggiungere elevati standard di qualità del latte ed uno stimolo ulteriore al suo miglioramento.

La metodologia per l'individuazione dei parametri di valutazione ed il loro peso specifico, positivo o negativo, sul risultato finale del punteggio è stata oggetto di successivi aggiornamenti e perfezionamenti, per giungere ad uno standard analitico completo e riconosciuto.

Ciò non toglie che a livello di singolo caseificio si possano adottare alcuni

adattamenti, in relazione alle specificità territoriali, ambientali e alle problematiche nei rapporti tra produttori e caseificio, che possono portare a riconoscimenti diversi nel punteggio ai fini della modulazione del prezzo del latte. Così, ad esempio, nel nostro caseificio è stato convenuto che i soci potessero essere beneficiati di 80 lire il litro come premio massimo alla qualità, oppure penalizzati di altrettanto in caso di qualità più scadente.

I parametri presi in considerazione sono: l'acidità, le cellule somatiche, l'esame LDG, i coliformi, i clostridi, la presenza o meno di inibenti, il grasso e la caseina. Il titolo di caseina è quello che riveste il maggiore peso nel punteggio. E non poteva essere diversamente, visto che la resa in formaggio è strettamente legata al contenuto in caseina del latte.

Il prelievo dei campioni ha una cadenza quindicinale, con alternanza della mungitura della sera e del mattino per mediare le caratteristiche del latte delle due mungiture. Dal conteggio complessivo dei punti mensili si ottengono i parametri per differenziare il prezzo del latte per ogni mese.

Senza entrare nelle descrizioni analitiche dei vari parametri e nelle tecniche del metodo, ci limitiamo a prendere in considerazione la posizione relativa dei punteggi complessivi, frutto della modulazione dei vari parametri conseguiti dall'azienda sotto controllo con quelli mediamente conseguiti da tutti i soci del caseificio.

Di seguito si riporta un prospetto relativo ad un prelievo quindicinale della mungitura della mattina con i risultati delle analisi ed i punteggi riscontrati nelle singole aziende e la media del caseificio. In questo caso il punteggio medio quindicinale del caseificio è di 18,37, a fronte di un punteggio dell'azienda in esame di 23,59 (+ 28%).

Tab. 3 - Prospetto delle analisi di laboratorio di un prelievo di latte

Libretto	Acidità °SH/50cc	Cellule x1000ml	Esame LDG	Coliformi ufc/ml	Clos. indir. +/-	Clos. MPN. spore/ litro	Inib enti +/-	Grasso %	Caseina %	Punti Quindi cina
4	3.35	182	A	0	+	150	-	3.93	2.51	21.44
5	3.30	135	A	0	-	70	-	3.68	2.34	19.44
7	3.35	247	AE	0	-	40	-	3.48	2.53	23.59
10	3.20	237	A	0	-	40	-	3.66	2.29	18.13
13	3.30	430	A	0	-	70	-	3.62	2.41	18.01
16	3.15	158	A	0	-	30	-	3.50	2.31	18.15
39	3.10	677	A	0	+	250	-	3.85	2.43	12.20
43	3.35	461	A	0	+	250	-	3.53	2.46	15.99
Medie Arit.	3.26	315.88		0.00		112.50		3.66	2.41	18.37

Questo punteggio andrà a modificare il prezzo di trasformazione del latte ottenuto dal caseificio, apportando dei correttivi in più (premio) o in meno (detrazioni) che avvantaggeranno o penalizzeranno i singoli produttori. Pertanto il prezzo del latte pagato ai soci sarà diverso in rapporto alla qualità del latte fornito.

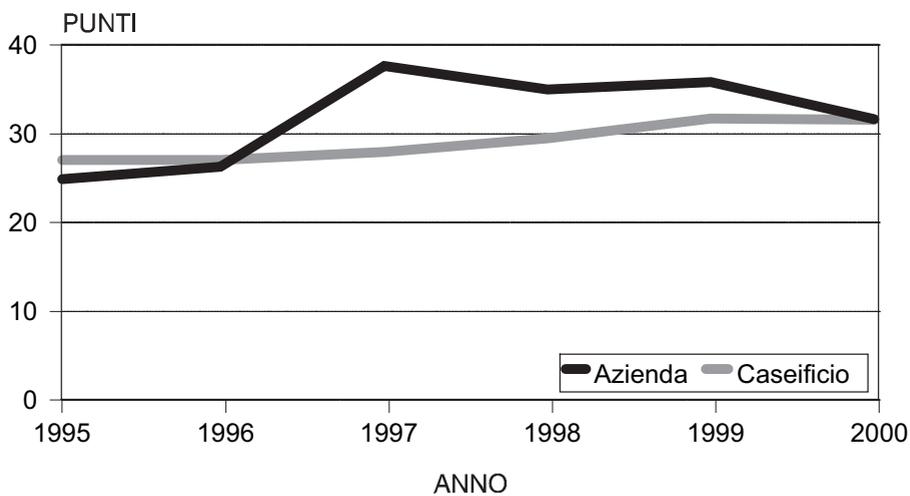
Al termine delle compensazioni la media ponderata dei prezzi del latte pagati

a tutti i soci dovrà corrispondere al prezzo di trasformazione del latte del caseificio.

In analogia con il periodo delle rilevazioni contabili (1995-2000), abbiamo raccolto anche i risultati delle analisi di laboratorio, volte a quantificare i punti di valutazione per il pagamento del latte secondo la qualità da parte del caseificio.

Dal grafico possiamo osservare l'evoluzione dei punteggi negli anni esaminati, che mette in evidenza un picco di crescita dei punti nell'allevamento, rispetto alla media del caseificio, in corrispondenza dell'annata in cui è stato introdotto l'unifeed (1997).

Graf. 3 – Punteggio dalle analisi di laboratorio del latte



Si rileva infatti che il punteggio dell'allevamento negli anni 1995 e 1996 era leggermente inferiore alla media del caseificio, rispettivamente dell'8% e del 3%, mentre nel 1997 lo ha superato del 36%.

Facendo la media dei punteggi dell'allevamento nel primo biennio (1995-1996), otteniamo un risultato inferiore del 6% rispetto al caseificio; nel quadriennio successivo (1997-2000), grazie all'introduzione dell'unifeed, l'azienda supera il punteggio del caseificio mediamente del 16%. In pratica, tra gli estremi del periodo riscontriamo un miglioramento all'interno dell'azienda del 28% e all'interno del caseificio del 17%. La valutazione del latte a qualità ha portato un vantaggio generalizzato nella qualità del latte di tutti i soci del caseificio il cui punteggio è migliorato in modo progressivo, sia pure lentamente per tutto il periodo, ma in particolare nell'allevamento che ha introdotto l'unifeed.

Per l'allevamento, il vantaggio riscontrato nel 1997 si mantiene anche nei due anni successivi, mentre nel 2000 si torna a livelli analoghi a quelli del caseificio. Da notare che il peggioramento del punteggio nel 2000 ha interessato un po' tutti gli aderenti al caseificio, a dimostrazione dell'insorgere di condizioni sfavorevoli comuni

a tutti i soci. Infatti in quell'anno vi sono stati dei problemi nell'approvvigionamento dei mangimi, la cui gestione è affidata al caseificio per conto dei soci.

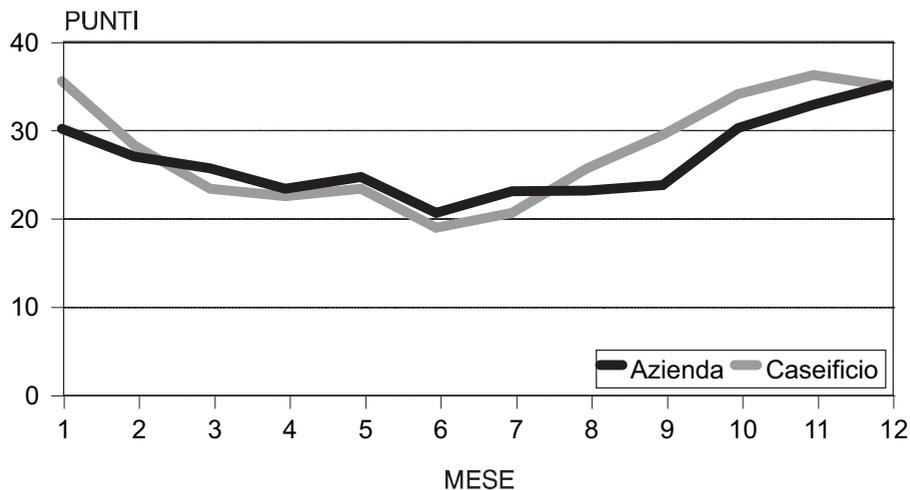
Il punteggio medio annuo non si differenzia tra il prelievo della mungitura della sera e quello della mattina, sia per l'azienda in esame sia per il caseificio. Diversa invece è l'evoluzione nel corso dei mesi dell'anno, come vedremo di seguito.

Il beneficio sulla qualità del latte in conseguenza all'introduzione dell'unifeed, risulta molto evidente nel grafico. Tale vantaggio per l'allevatore si è tradotto in un premio sul prezzo del latte. Infatti, il premio riscosso dall'azienda per la qualità del latte è stato mediamente di 40 lire il litro nel secondo sottoperiodo.

Maggiore variabilità del punteggio si riscontra dall'analisi delle medie mensili nel corso dell'anno. Prendendo in esame l'intero periodo, si ripete di sei anni, si riscontrano dei valori maggiori nelle stagioni autunnale e invernale, mentre il punteggio si abbassa nelle stagioni primaverile ed estiva. Tali effetti sono riconducibili alle condizioni climatiche e alla tipologia dell'alimentazione, in particolare all'impiego di foraggio verde.

I prelievi della mungitura della sera e del mattino mettono in evidenza che i risultati complessivi sono analoghi, anche se i prelievi della sera manifestano una maggiore variabilità mensile, che si compensa poi nella media annuale. La minore variabilità riscontrata nei prelievi del mattino può essere attribuita al riposo notturno degli animali e alle migliori condizioni climatiche della notte nel periodo estivo. Infatti sono proprio i prelievi della sera del periodo estivo che danno i punteggi più bassi.

Graf. 4 – *Punteggio dalle analisi di laboratorio del latte (media mensile 1995-1996)*



Abbiamo voluto poi confrontare i risultati medi mensili tra i primi due anni dell'indagine (1995-1996), nei quali l'allevamento sotto controllo adottava la stessa

tecnica di alimentazione degli altri allevamenti aderenti al caseificio, e i quattro anni successivi (1997-2000), nei quali il nostro allevamento è stato l'unico ad introdurre l'unifeed.

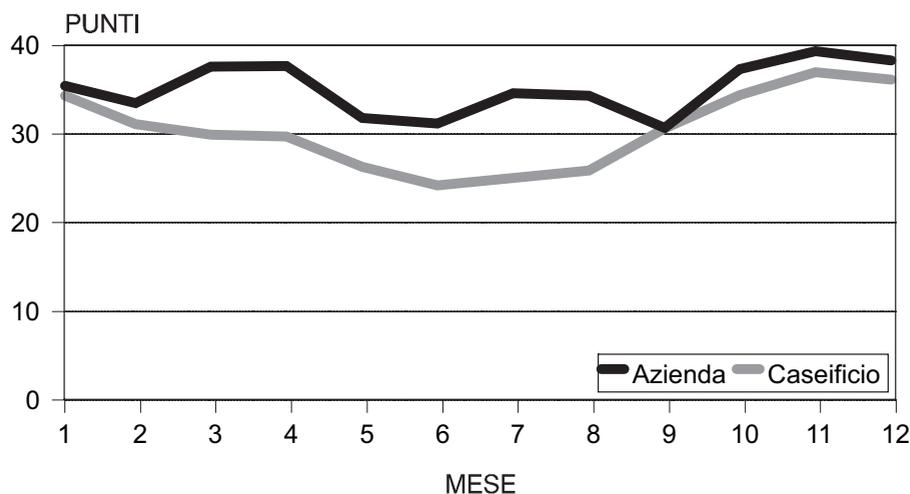
Da questi confronti appare ancora più evidente la differenziazione dei punteggi nel periodo primavera-estate tra l'allevamento che ha adottato l'unifeed e il punteggio medio conseguito del caseificio.

Nei due anni precedenti l'introduzione dell'unifeed i punteggi medi mensili dell'allevamento ricalcavano quelli del caseificio nel corso di tutto l'anno, in coerenza con lo stesso tipo di alimentazione. In tali anni l'azienda non ottenne nessun premio per la qualità del latte.

Nei quattro anni successivi, con l'introduzione dell'unifeed, l'allevamento si colloca su valori mensili sempre superiori per tutti i mesi dell'anno, ma con particolare evidenza nelle stagioni primaverile ed estiva, periodo nel quale le modalità di alimentazione del bestiame sono più differenziate: alimentazione a secco dell'azienda con l'unifeed e a verde per gli altri allevamenti.

Il punteggio medio all'interno dell'allevamento è migliorato del 44% nel primo anno d'introduzione dell'unifeed (1997), passando da 25,71 punti del 1996 a 37,06 punti nel 1997. Dal confronto tra la media dei sottoperiodi 1995-1996 e 1997-2000 il vantaggio conseguito si consolida sul 28%, confermando la validità della scelta dell'unifeed ai fini del miglioramento qualitativo del latte e fugando ogni dubbio sul rischio di peggioramento del formaggio Parmigiano Reggiano in conseguenza dell'adozione dell'unifeed. Infatti l'azienda, si ripete, aveva conseguito un punteggio medio negativo del 6% nei confronti del caseificio nel biennio 1995-1996, mentre nel quadriennio successivo acquistava un vantaggio del 16%, con una crescita complessiva di 22 punti percentuali.

Graf. 5 – Punteggio dalle analisi di laboratorio del latte (media mensile 1997-2000)



In conclusione, i risultati della ricerca, sia pure limitati ad un caso aziendale ma estesi a ben sei anni di rilevazioni, hanno confermato che l'introduzione del metodo unifeed, non solo non ha avuto effetti negativi sulla qualità del latte biologico per Parmigiano Reggiano, ma ha contribuito a migliorarla notevolmente. Le ripercussioni non possono che essere positive anche sulla qualità del formaggio, specialmente nel periodo nel quale gli altri allevatori facevano uso dei foraggi verdi, salvaguardando ancora meglio la qualità e la tipicità del nostro prestigioso formaggio. Ciò è stato riconosciuto dallo stesso caseificio che ha tenuto separata la lavorazione del latte conferito dall'allevatore, potendo così verificare anche la qualità del formaggio ottenuto. In effetti l'allevatore ha ricevuto anche un premio sul prezzo del latte a riconoscimento della qualità che è risultata superiore a quella media dei soci del caseificio.

In realtà la pratica dell'alimentazione del bestiame con foraggio secco per tutto l'anno non è una prerogativa degli allevatori che adottano l'unifeed. Da diversi anni la pratica dell'alimentazione a secco si va sempre più affermando in altri allevamenti, soprattutto in quelli di maggiore dimensione, per semplificare la gestione aziendale e contenere il costo della manodopera. Ciò si traduce anche in un miglioramento della qualità del latte, specialmente nei periodi nei quali si faceva uso del foraggio verde.

Pertanto nel nostro allevamento la pratica dell'unifeed risulta vantaggiosa sulla qualità del latte per il mancato uso del foraggio verde, e non si differenzia dagli altri allevamenti quando anch'essi praticano l'alimentazione a secco, cioè nel periodo autunno-inverno.

In futuro la diffusione del metodo unifeed negli allevamenti dediti alla produzione di latte per Parmigiano Reggiano non potrà che migliorare le caratteristiche qualitative del latte, e quindi del formaggio, fugando ogni riserva sulla introduzione di questa nuova tecnica di alimentazione del bestiame anche nel comprensorio di produzione. Vanno naturalmente adottate tutte le precauzioni per una corretta applicazione del metodo, nel rispetto rigoroso della normativa del Consorzio sulla tipologia degli alimenti e la buona tecnica agricola.

7. Conclusioni

La produzione di latte per Parmigiano Reggiano è strettamente regolamentata dal Consorzio di tutela allo scopo di assicurare livelli qualitativi eccellenti per ottenere un formaggio che è considerato un prodotto unico al mondo.

L'attenzione alla qualità prende le mosse dal controllo dell'alimentazione del bestiame e con l'introduzione dei carri miscelatori sono sorti i primi interrogativi e le prime preoccupazioni sulle possibili conseguenze sulla qualità del latte.

I dubbi sono stati fugati da una attenta verifica del metodo e dalle indagini sul campo circa la corretta applicazione del carro miscelatore. E' stata così esclusa, ad esempio, la preparazione unica giornaliera per propendere verso la doppia preparazione dell'alimento, onde evitare possibili fermentazioni del prodotto che avrebbero avuto riflessi negativi sulla qualità del latte. Le materie prime impiegate

rimangono comunque sempre quelle ammesse dal regolamento del Consorzio. Analoghe preoccupazioni si ripropongono con più impellenza nel caso delle produzioni biologiche, sempre più impegnate ad assicurare un'elevata qualità e salubrità delle produzioni.

Nella nostra indagine abbiamo cercato di quantificare i riflessi economici conseguenti all'introduzione dell'unifeed, nonché le ripercussioni sulla qualità del latte ottenuto in conseguenza del nuovo metodo.

Sul primo aspetto, quello economico, l'indagine ha dimostrato che con l'introduzione del carro miscelatore le performance sono migliorate, con una consistente riduzione del costo di produzione del latte (dell'11% a lire correnti e del 22% a lire costanti), con una crescita complessiva della produzione di latte del 52% e della produttività delle vacche del 7%. In realtà, nel 1997 in coincidenza con l'introduzione dell'unifeed, la produttività delle vacche ha avuto un balzo del 18% in un solo anno.

Il nuovo metodo di alimentazione del bestiame ha consentito all'imprenditore di allargare la dimensione della mandria e di aumentare la produzione di latte a parità di impiego di lavoro. Il risultato conseguito è stato coerente con il perseguimento delle economie di scala.

Purtroppo la congiuntura sfavorevole del mercato lattiero-caseario, sulla quale l'imprenditore non ha alcuna voce in capitolo, ha penalizzato il reddito dell'azienda, come quello di tutti gli altri allevatori del comprensorio di produzione del formaggio Parmigiano Reggiano, compresi i produttori biologici.

Ciò nonostante l'uso del carro miscelatore ha dimostrato tutta la sua validità nel migliorare le performance economiche dell'azienda, anche nei confronti di altri allevamenti che non fanno uso del carro miscelatore. La sua diffusione nel comprensorio non potrà che accompagnare l'espansione delle mandrie, alla ricerca di condizioni economiche più vantaggiose, quali sono quelle legate alle economie di scala.

Sul secondo aspetto, quello della qualità del latte, la ricerca ha fugato ogni dubbio in merito, dimostrando che una corretta adozione del carro miscelatore può contribuire a migliorare la qualità del latte e non a peggiorarla. Ciò è emerso dalle analisi di laboratorio sulla qualità del latte dell'azienda e di questa nei confronti della qualità del latte delle altre aziende aderenti al caseificio che hanno mantenuto il tipo di alimentazione tradizionale. Il parametro di riferimento per la valutazione della qualità del latte è il punteggio conseguito dalle analisi di laboratorio per il pagamento del latte in base alla qualità.

In particolare, l'allevamento sotto controllo era partito con un punteggio negativo nei confronti della media dei soci del caseificio negli anni antecedenti l'introduzione del carro miscelatore. Negli anni successivi il punteggio dell'azienda si è portato decisamente verso l'alto, con una crescita di ben il 44% nell'anno di introduzione del carro miscelatore, superando la stessa media del caseificio del 36%; il vantaggio si è mantenuto anche negli anni successivi.

In conclusione, dai risultati delle ricerche condotte è emerso che l'introduzione del carro miscelatore nella produzione del latte biologico per Parmigiano Reggiano ha avuto un risultato nettamente positivo sia in termini economici che di qualità del latte.

Parole chiave: zootecnia biologica, Parmigiano Reggiano, unifeed, latte, economia, qualità.

Key words: organic zootechnics, Parmigiano Reggiano, unifeed, milk, economy, quality.

Mots-clés : zootechnie biologique, Parmigiano Reggiano, unifeed, lait, économie, qualité.

RIASSUNTO – L'introduzione dell'unifeed nel comprensorio di produzione del formaggio Parmigiano Reggiano è piuttosto recente. Le riserve alla sua introduzione erano dettate inizialmente dal rischio di compromettere la qualità e la tipicità di un formaggio unico al mondo.

Con questa ricerca abbiamo cercato di quantificare gli effetti economici prodotti sull'azienda, dedita alla produzione di latte biologico per Parmigiano Reggiano, in conseguenza dell'introduzione dell'unifeed, nonché gli effetti prodotti sulla qualità del latte.

Grazie all'introduzione dell'unifeed il costo di produzione del latte è diminuito in sei anni del 22%, nonostante i nuovi investimenti che si sono resi necessari, e ad un ritmo più accelerato del 19% rispetto ad un gruppo di allevamenti di riferimento che non avevano adottato l'unifeed.

Anche la qualità del latte è migliorata notevolmente, sia in valore assoluto sia nei confronti degli altri allevamenti aderenti al caseificio e che non avevano l'unifeed. Il miglior punteggio sulla qualità del latte si è tradotto in un premio al prezzo del latte liquidato dal caseificio.

SUMMARY – *Organic zootechnics, Parmigiano Reggiano and unifeed: economic and qualitative aspects of milk production.*

The introduction of the unifeed system in the production area of Parmigiano Reggiano cheese is fairly recent. Reservations regarding its introduction initially sprang from the fear that the quality and typical nature of a cheese that is unique throughout the world might be jeopardised.

In this study we have attempted to quantify the economic effects produced on the enterprise dedicated to the production of organic milk for Parmigiano Reggiano as a result of the introduction of the unifeed system, as well as the effects produced on the quality of the milk itself.

Thanks to the introduction of the unifeed technique, milk production costs have dropped by 22% in six years, notwithstanding the new investments that proved to be necessary. Such reduction in costs, moreover, came about at a faster rate (19%) compared to the reference farm group which had not adopted the use of unifeed.

The quality of the milk also improved notably, both as regards its absolute values and compared to that of the other farms supplying the cheese factory that had not adopted the use of unifeed. The higher quality score of the milk produced earned the supplying farm a bonus from the cheese factory.

RÉSUMÉ – *Zootecnie biologique, Parmigiano Reggiano et unifeed : aspects économiques et qualitatifs de la production de lait.*

Ce n'est que depuis peu que la méthode unifeed a été introduite dans la zone de production du fromage Parmigiano Reggiano. Quelques réticences ont été émises lors de son apparition car, au départ, on craignait que ce système ne compromette la qualité et l'authenticité d'un fromage unique au monde.

Par cette recherche, nous avons tenté de quantifier d'une part les effets économiques produits sur l'entreprise spécialisée dans la production de lait bio pour la fabrication de Parmigiano Reggiano suite à l'introduction du système unifeed, et d'autre part les effets produits sur la qualité du lait.

L'arrivée de la technique unifeed a permis de réduire le coût de production du lait de 22% en six ans malgré les nouveaux investissements qui ont été nécessaires. Cette diminution s'est effectuée à un rythme plus rapide (19%) que celle qu'a connue un groupe d'éleveurs de référence n'ayant pas adopté l'unifeed.

La qualité du lait s'est également améliorée de manière considérable, en valeur absolue ainsi qu'à l'égard des autres éleveurs membres de la fromagerie mais qui n'avaient pas adopté l'unifeed. La fromagerie a versé une prime en récompense du meilleur niveau de qualité du lait.

Bibliografia

- 1) ANSALONIF., SALGHETTIA. (1996) "Latte biologico e derivati: l'organizzazione della filiera", in *Economia Agro-Alimentare*, Anno I, n. 1.
- 2) BISAGLIA C. (2000) "Criteri di scelta e d'impiego dei carri trinciamiscelatori", in *L'informatore agrario*, n. 21.
- 3) BISAGLIA C. (2002) "Un nuovo sistema di trinciamiscelazione su carri unifeed", in *L'informatore agrario*, n. 45.
- 4) BONAZZI G. (1998) "Agricoltura biologica: alcuni elementi di riferimento", in *L'Avvenire Agricolo*, Anno 106, n. 6.
- 5) DEMALDE' R., CALEGARI F. (2000) "Costi di preparazione e distribuzione degli alimenti con i carri unifeed", in *L'Informatore agrario*, n. 21.
- 6) DE ROEST K. (2000) "The production of Parmigiano Reggiano Cheese, the force of an artisanal system in an industrialised world". CERES, Van Gorcum, Assen.
- 7) GIACOMELLI P. (1998) "Le decisioni d'investimento nella gestione economica e finanziaria dell'impresa zootecnica, considerazioni sull'introduzione del carro miscelatore in aziende del comprensorio Parmigiano Reggiano", in *Parma Economia*, n. 3.
- 8) GIOVANNINIE. (1994) "Quanto costa produrre latte biologico", in *Bioagricultura*, n. 31.
- 9) MOLFINO M. (1997) "Nutritive Unifeed", in *L'Informatore zootecnico*, n.6.

- 10) MESSORI F. (1999) “Aspetti economici dell’agricoltura biologica nella provincia di Reggio Emilia. Un’analisi di Filiera” (a cura di) Dip. di Protezione e Valorizzazione Agroalimentare dell’Università di Bologna.
- 11) PECORARI M. (1985) “Aspetti tecnici ed operativi del pagamento del latte a qualità in Provincia di Parma”, in *Atti del Convegno: Pagamento del latte a qualità*. Amministrazione Provinciale di Parma.
- 12) PECORARI M., PANARI G., GUIDETTI R., MORA R., SUMMER A. (2001) “Influenza della tecnica di alimentazione *Piatto Unico* sulle caratteristiche del latte, sulla tecnologia di caseificazione e sulla qualità e tipicità del Parmigiano Reggiano, in *Scienza e Tecnica lattiero-casearia*, 52(5), 311-323.
- 13) PIVA G, MASOERO F. (1985) “Alimentazione a piatto unico (Unifeed)”, in *Atti della Società Italiana di Buiatria*.
- 14) PRONI G. (1940) “Contributo allo studio del costo di produzione in agricoltura”, INEA, Roma.
- 15) PROVETTO G.M. (1985) “Razioni unifeed per vacche da latte”, in *Professione allevatore*, n.11.
- 16) PROVETTO G.M. (1991) “Carro unifeed e autoalimentatori”, in *Professione Allevatore*, n. 8.
- 17) ROMANO M. (1989) “Agricoltura biologica e convenzionale a confronto”, in *Demetra*, n. 11.
- 18) SALGHETTIA. (1997) “Produzioni biologiche e convenzionali negli allevamenti bovini”, CNR-RAISA, Università degli Studi di Parma, Istituto di Economia Rurale e Zoonomia.
- 19) SALGHETTI A., BONAZZI G. (2001) “Cinque anni di zootecnia biologica a confronto” in *Annali Fac. Med. Vet., Università di Parma*, XXI, 183-211.
- 20) SANTUCCI F.M. (1994) “Confronto tra aziende biologiche e convenzionali in Umbria”, in *Bioagricoltura* n. 31.
- 21) SETTI G. (2000), “Parmigiano, foraggi anche con l’unifeed”, in *Terra e Vita*, n.8.

“PROSCIUTTO DI PARMA” DOP E SISTEMA DEI CONTROLLI

Giuseppe Bonazzi¹

1 - Premessa

Le attività legate all'agricoltura, all'industria di trasformazione delle produzioni agricole ed i servizi ad essa collegati sono particolarmente importanti nel sistema socio-economico della provincia di Parma. L'economia provinciale è infatti caratterizzata dalle produzioni alimentari e dalle produzioni di macchine ed impianti per la lavorazione dei prodotti alimentari.

Il comparto dell'industria alimentare, nel 2003, ha avuto un fatturato di 6.100 milioni di Euro, di cui 730 milioni di Euro sul canale export, è il primo comparto industriale della provincia di Parma, seguito dalla meccanica, con un fatturato di 4.100 milioni, e dall'edilizia. Rilevante pure il peso dell'impiantistica alimentare, con un fatturato di 2.600 milioni di Euro, che si colloca al quarto posto nel complesso del sistema industriale provinciale, a conferma dell'importanza dell'agroalimentare nell'economia parmense.

Tabella 1 – Fatturato dell'industria in provincia di Parma (2003)

Comparto	Fatturato in milioni di Euro	%
Alimentare	6.100,00	30,50%
Carta e grafica	300,00	1,50%
Chimici, farmaceutica e petroli	650,00	3,25%
Gomma e plastica	950,00	4,75%
Impiantistica alimentare	2.600,00	13,00%
Lavori minerali non metalliferi	950,00	4,75%
Legno	400,00	2,00%
Meccanica generale	4.100,00	20,50%
Tessile e abbigliamento	550,00	2,75%
Altre produzioni manifatturiere	200,00	1,00%
Edilizia installazione impianti	3.200,00	16,00%
Totale	20.000,00	100,00%

Fonte: Unione Parmense degli Industriali

¹ Sezione Risorse del Territorio, Dipartimento di Salute Animale, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Parma

La suddivisione del fatturato dell'industria alimentare per comparti evidenzia, sempre sulla base dei dati 2003, come il comparto di maggior peso nell'industria alimentare sia quello della pasta, panetteria, dolci e surgelati, con 2.600 milioni di Euro. Il dato è influenzato dalla presenza nel territorio della provincia di alcune grandi aziende, che caratterizzano il tessuto industriale locale. Accanto al comparto della pasta, assumono notevole rilievo anche il comparto delle conserve animali ed il comparto lattiero caseario, rispettivamente con 1.500 milioni di Euro e 1.200 milioni di Euro di fatturato. Emerge quindi un notevole grado di specializzazione produttiva dell'industria alimentare parmense, che concentra oltre il 90% del proprio fatturato nei tre comparti principali della pasta, panetteria, dolci e surgelati, delle conserve animali e del lattiero-caseario.

Tabella 2 – Fatturato dell'industria alimentare in provincia di Parma (2003)

Comparto	Fatturato in milioni di Euro	%
Pasta, panetteria, dolci, surgelati, etc	2.600,00	42,62%
Conserve animali	1.500,00	24,59%
Casearia, latte e gelati	1.200,00	19,67%
Conserve vegetali	400,00	6,56%
Molitoria	100,00	1,64%
Conserve ittiche	100,00	1,64%
Oli e grassi	50,00	0,82%
Bevande	50,00	0,82%
Altri alimentari	100,00	1,64%
Totale	6.100,00	100,00%

Fonte: Unione Parmense degli Industriali

Tra questi comparti, assume un particolare interesse il comparto della lavorazione delle carni, per il suo legame storico con il territorio e per l'influenza sul sistema socio-economico locale.

In Italia è presente una rilevante attività legata alle carni suine, il fatturato del comparto è di 6,8 miliardi di Euro (2002), sono presenti 3.720 unità produttive, di cui 1.250 industriali, mentre gli occupati sono circa 32.000. I trend dei consumi di carni suine hanno mostrato una notevole crescita negli ultimi anni, passando da 29 Kg. di carne di consumo pro capite del 1992 ai 38 Kg. nel 2003. Tra i salumi, emerge la prevalenza del consumo di prosciutto cotto con il 27,9% dei consumi in peso, cui seguono il prosciutto crudo con il 20,3%, la mortadella ed i wurstel con il 19,3%, ed infine i salami con il 9,1%. Tra i prosciutti crudi le quote di mercato in Italia vedono la prevalenza del Prosciutto di Parma, che in valore è pari ad oltre il 40% del mercato nel 2003, cui segue il Prosciutto di San Daniele, con una quota di mercato del 13,7%, prosciutti minori ed altri incidono per il 46,3% circa. Per quanto riguarda la struttura del settore si rileva una notevole frammentazione, infatti a livello nazionale

solo una decina di aziende supera i 50 milioni di Euro annui di fatturato. Tuttavia, la maggioranza di queste non operano nel comparto delle produzioni tipiche, o vi operano solo parzialmente, con alcuni stabilimenti produttivi attivi nelle produzioni tipiche e altri attivi nelle produzioni industriali.

In provincia di Parma sono presenti 250 salumifici localizzati in particolare nell'area pedecollinare nei comuni della cintura del capoluogo a sud. In tale ambito, in alcuni comuni della provincia, tra cui Felino, Langhirano e Sala Baganza, il settore della lavorazione della carne per le produzioni di salumeria risulta centrale nell'economia locale. Il comparto dei salumi a Parma è caratterizzato da una consolidata tradizione, oltre al Prosciutto di Parma, altri prodotti che caratterizzano il territorio sono il Culatello di Zibello, il Salame Felino e la Coppa di Parma.

La produzione del prosciutto è caratterizzata dalla produzione di Prosciutto di Parma DOP e dalla produzione di prosciutti "esteri", intendendo i prosciutti derivanti da cosce di suino di minore dimensione, caratterizzati da un minor peso all'origine, e da un minor periodo di stagionatura. La particolare vocazione della zona di Parma per la produzione di prosciutti, in termini di presenza di manodopera specializzata e di aziende di fornitura di servizi ai prosciuttifici, ha contribuito all'insediamento di numerosi stabilimenti di produzione di prosciutto in modo tale che attualmente il distretto produttivo di Parma soddisfa più del 50% della domanda nazionale al consumo di prosciutto.

Le attività di servizio ai prosciuttifici si articolano in un complesso di comparti quali industrie meccaniche per la produzione di macchinari per l'industria alimentare, oltre ad attività di servizi, quali disossatori, sugnatori e salatori, e attività commerciali e di sostegno alla commercializzazione e alla gestione dei prosciuttifici. In questo modo la presenza di un'attività centrale di lavorazione del prosciutto, unita a molteplici attività di servizio, fa assumere al territorio di questi comuni i caratteri del distretto agroalimentare per la lavorazione delle carni, sia esso prosciutto di Parma DOP che altri prosciutti e altri salumi.

Il mercato interno del Prosciutto di Parma, sui dati 2003, assorbe l'82,3%, mentre il canale estero assorbe il 17,7% del valore del mercato al consumo. Le esportazioni riguardano in particolare Francia, Germania e Stati Uniti, con circa 1,6 milioni di prosciutti esportati nel corso del 2003. Relativamente alla ripartizione delle vendite nazionali del Prosciutto di Parma per area geografica prevalgono le vendite nel nord Italia, sia nel nord est, sia nel nord ovest che, congiuntamente, compongono il 70% circa del mercato del Prosciutto di Parma in Italia. Il rilievo del centro e del sud Italia nella formazione del mercato del Prosciutto di Parma a livello nazionale si equivalgono, con una quota di mercato del 15% circa per entrambe le aree geografiche.

2 - Tutela della qualità e sicurezza alimentare del Prosciutto di Parma

Per quanto riguarda il Prosciutto di Parma, l'attribuzione della Denominazione di Origine Protetta (DOP) è stata ottenuta nel 1996, su istanza del Consorzio del Prosciutto di Parma. Questo organismo è nato nel 1963, come Consorzio volontario

di tutela del Prosciutto di Parma. Il Consorzio è nato come organizzazione di produttori, in origine 23, saliti a fine 2003 al numero di 189, con la finalità di tutelare e salvaguardare il metodo tradizionale di lavorazione del Prosciutto di Parma.

Il Prosciutto di Parma DOP, riconosciuto ai sensi del Reg. CEE 2081/92, è prodotto in base al Disciplinare di produzione predisposto dal Consorzio del Prosciutto di Parma, è ottenuto dalla lavorazione delle cosce di suino pesante, di oltre 9 mesi di età e di peso superiore ai 150 Kg, macellato “sano, riposato e digiuno da almeno 15 ore”, come indicato dal Disciplinare di produzione. Il Disciplinare prevede altresì che il suino debba essere allevato in un territorio definito, 11 regioni del nord e centro Italia, mentre la lavorazione deve essere effettuata nel territorio della provincia di Parma, delimitato a sud della Via Emilia, a distanza di almeno 5 Km da questa, ad est dal fiume Enza ed a ovest dal torrente Stirone. Verso sud il limite di produzione del Prosciutto di Parma è dato dall'altitudine, ed infatti è compreso nell'area tipica di produzione solo quel territorio che non superi i 900 metri di altitudine sul livello del mare. Per quanto riguarda la localizzazione degli stabilimenti di produzione, sono 14 i comuni della provincia di Parma in cui sono presenti prosciuttifici, e cioè i comuni di Calestano, Collecchio, Corniglio, Felino, Langhirano, Lesignano Bagni, Medesano, Montechiarugolo, Neviano Arduini, Palanzano, Sala Baganza, Tizzano Val Parma, Traversetolo e Varano Melegari, anche se, per quanto riguarda la concentrazione territoriale, oltre il 60% dei prosciuttifici si concentra nei comuni di Langhirano, Felino e Sala Baganza. Infatti, ben 76 prosciuttifici sono localizzati nel comune di Langhirano, 22 nel comune di Felino e 14 nel comune di Sala Baganza, per un totale di 112 prosciuttifici su un totale di 189 aderenti al Consorzio del Prosciutto di Parma localizzati in soli tre comuni. È lo statuto del Consorzio del Prosciutto di Parma che definisce le finalità e le attività di tutela, tra cui la gestione e la salvaguardia delle regole produttive, la gestione della politica economica del comparto, la vigilanza e la tutela delle disposizioni di legge e dei regolamenti, la protezione del nome “Prosciutto di Parma”, del relativo marchio, e le politiche commerciali e di valorizzazione del prodotto in Italia e nel mondo, provvede alle campagne pubblicitarie, a livello nazionale ed internazionale, e svolge il proprio ruolo a favore delle aziende produttrici. Il Consorzio ha altresì il compito di gestire il Disciplinare di produzione del Prosciutto di Parma. Questo documento, che definisce tutte le fasi della produzione del Prosciutto di Parma DOP, dall'allevamento dei suini sino al completamento della stagionatura, prevede anche la predisposizione dei manuali operativi, e la loro eventuale revisione, che sono utilizzati dall'Istituto Parma Qualità (IPQ) nell'attività di certificazione e controllo sul Prosciutto di Parma DOP.

Accanto al Consorzio del Prosciutto di Parma, opera l'Istituto Parma Qualità (IPQ), che ha la finalità di svolgere, ai sensi dell'art. 10 del Reg. CEE 2081/92, da parte di un soggetto “terzo ed indipendente”, i controlli necessari sul Prosciutto di Parma. IPQ svolge le funzioni di controllo sul “Prosciutto di Parma” dal 1° gennaio 1998. L'attività è svolta attraverso servizi unificati di controllo con l'Istituto Nord Est Qualità (INEQ), istituto sorto relativamente al DOP Prosciutto di San Daniele, nell'ambito di un sistema di dipartimentazione delle attività operative, costituendo

così un sistema di controllo della filiera che è funzionale alle DOP. I servizi unificati interessano le seguenti produzioni: DOP Prosciutto di San Daniele (INEQ); DOP Prosciutto di Parma (IPQ); DOP Prosciutto Veneto-Berico Euganeo (INEQ); DOP Prosciutto di Modena (IPQ); DOP Culatello di Zibello (IPQ); DOP Valle d'Aosta Lard d'Arnad (INEQ); in base all'accordo con l'organismo di controllo ufficiale: DOP Prosciutto Toscano (CSQA); DOP Salame Brianza (CSQA); DOP Soppressa Vicentina (CSQA); ed inoltre: DOP Valle d'Aosta Jambon de Bosses (INEQ); DOP Salame di Varzi (IPQ); DOP Salamini italiani alla cacciatora (INEQ).

L'attività di controllo si sostanzia nel controllo dei requisiti di origine e di conformità della materia prima e del processo produttivo, a monte della filiera, e nel controllo dei requisiti di conformità e di qualità del prodotto. L'attività di IPQ si articola, quindi, nell'attività di organizzazione dei sistemi di autocertificazione e di controllo lungo la filiera, sino alla macellazione, e nell'attività di controllo, collaudo e certificazione della produzione. L'attività di IPQ realizza quindi un sistema di controlli e di verifiche di conformità nelle fasi dell'allevamento, della macellazione, e della produzione salumiera, in modo tale da garantire l'osservanza del Disciplinare di produzione in tutte le fasi della filiera, dalla produzione della materia prima del Prosciutto di Parma, sino al termine della stagionatura. Sarà IPQ che provvederà alla marchiatura del Prosciutto di Parma.

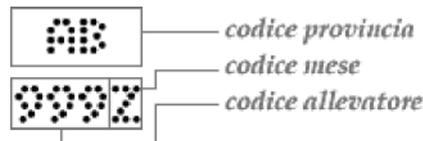
Ai fini di garantire la completa tracciabilità delle produzioni, tutte le informazioni raccolte da IPQ confluiscono nel sistema informativo dell'Istituto stesso, affinché sia possibile, partendo da un qualsiasi punto del processo produttivo, disporre delle informazioni di origine della carne, dall'allevamento di nascita del suino, al macello, sino al termine della stagionatura. I piani di controllo della filiera del prosciutto sono elaborati da IPQ previa approvazione da parte del Ministero delle Politiche Agricole e Forestali, e si articolano sul principio della tracciabilità della filiera del prosciutto, affinché ogni passaggio all'interno della filiera sia documentabile e sia rispondente alle norme contenute nel Disciplinare di produzione. I controlli condotti da IPQ sulla filiera produttiva, dalla materia prima sino al prodotto finito, sono condotti attraverso verifiche documentali e attraverso verifiche a campione, e nel caso in cui siano riscontrate "non conformità" rispetto al Disciplinare di produzione, sono previste misure correttive, graduate sulla base della gravità dell'inadempimento, sino alla rimozione delle cause della "non conformità", ad esempio estromettendo dal processo produttivo le produzioni riscontrate come non conformi.

Sempre per quanto riguarda i controlli effettuati da IPQ, assume un rilievo particolare il controllo finale di conformità per l'apposizione del contrassegno DOP Prosciutto di Parma, sui prosciutti stagionati.

I controlli di filiera realizzati da IPQ per il rispetto del Disciplinare di produzione, si articolano anche nell'impressione di diversi marchi sulla coscia del suino avviata fresca alla lavorazione.

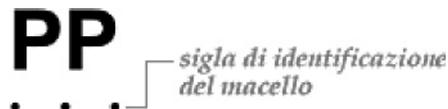
Il primo marchio che compare sulla coscia del suino, ai fini della tracciabilità lungo la filiera del prosciutto, è un tatuaggio indelebile posto dall'allevatore su

entrambe le cosce del suino, che indica il codice di identificazione dell'allevamento, il mese di nascita dell'animale, la provincia in cui ha sede l'allevamento in cui è nato il suino.



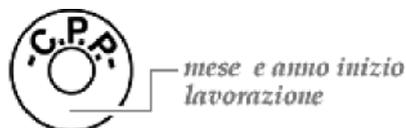
Fonte: Consorzio del Prosciutto di Parma

Altro marchio per le cosce dei suini giudicate idonee alla lavorazione è il timbro a fuoco apposto dal macellatore, che individua in modo indelebile, attraverso un codice, lo stabilimento di macellazione.



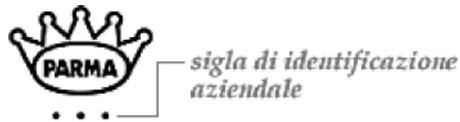
Fonte: Consorzio del Prosciutto di Parma

Ad inizio stagionatura è quindi apposto su ogni prosciutto un sigillo metallico, che indica il mese e l'anno di inizio del processo di stagionatura, in modo tale da permettere immediatamente la verifica della corretta durata del periodo di stagionatura previsto dal Disciplinare del Prosciutto di Parma.



Fonte: Consorzio del Prosciutto di Parma

Dopo 10 mesi di stagionatura, per i prosciutti con peso finale compreso tra i 7 Kg ed i 9 Kg, e dopo 12 mesi per i prosciutti con peso finale superiore a 9 Kg, i prosciutti che rispondono alle norme contenute nel Disciplinare di produzione sono marchiate a fuoco con la corona ducale a 5 punte, con indicazione di un codice che identifica l'azienda in cui è avvenuta la lavorazione del prosciutto.



Fonte: Consorzio del Prosciutto di Parma

Un ultimo controllo è infine effettuato, eventualmente, ai fini della certificazione del Prosciutto di Parma posto in commercio già affettato. Dall'analisi dei trend di consumo emerge il peso crescente che stanno assumendo nuove modalità di consumo. Queste tendenze esprimono i cambiamenti nella domanda dei beni alimentari degli ultimi anni, e che vedono tra le determinanti del consumo alimentare il crescere di rilievo dell'importanza dei servizi acclusi al bene alimentare, oltre alla facilità di consumo, accanto ai temi della qualità e della sicurezza alimentare. A tal fine il Disciplinare di produzione del Prosciutto di Parma prevede che il prosciutto possa essere posto in vendita, dopo la marchiatura con la corona ducale, disossato, a tranci, oppure affettato. Al fine di garantire l'origine del prosciutto affettato è previsto, infine, che il marchio della corona ducale sia impresso in modo indelebile sulla confezione del prosciutto, ed inoltre le operazioni di affettazione e confezionamento devono essere svolte in laboratori autorizzati e alla presenza di personale di IPQ.

Tutte le fasi della filiera del prosciutto, dall'allevamento sino al completamento della stagionatura, sono monitorate, in modo tale da garantire la tracciabilità del prosciutto, dalla produzione sino al consumo finale, a garanzia della qualità e della sicurezza degli alimenti quali fattori essenziali delle scelte di consumo.

Gli allevamenti riconosciuti ai fini della DOP del Prosciutto di Parma sono 5.386, nel 2003, localizzati nelle 11 regioni del centro nord Italia (Abruzzo, Emilia Romagna, Friuli Venezia Giulia, Lazio, Lombardia, Marche, Molise, Piemonte, Toscana, Umbria e Veneto). In queste regioni, infatti, il Disciplinare di produzione del Prosciutto di Parma consente l'allevamento dei suini, da cui sarà ricavata la coscia fresca da sottoporre a lavorazione e stagionatura. La concentrazione maggiore degli allevamenti si rileva nel nord-ovest, con 1.996 allevamenti in Lombardia, 1.161 allevamenti in Emilia Romagna e 1.043 allevamenti in Piemonte. Un certo peso assume anche il Veneto, con 502 allevamenti censiti, nelle restanti regioni sono localizzati meno del 20% degli allevamenti di suino riconosciuti ai fini della DOP. Su dati 2003, per quanto riguarda l'origine dei suini conferiti ai fini delle DOP per regione, si conferma la polarizzazione territoriale dell'origine dei suini, con il 53,0% dei suini derivanti da allevamenti lombardi, il 17,2% derivanti da allevamenti emiliano romagnoli, il 12,2% derivanti da allevamenti piemontesi ed il 10,4% derivanti da allevamenti veneti.

Tabella 3 – Origine per regione dei suini certificati ai fini delle DOP (2001/2003)

Regioni di nascita (origine) dei suini certificati	Percentuale sul totale dei suini certificati		
	Anno 2001	Anno 2002	Anno 2003
Lombardia	48,70%	52,30%	53,00%
Emilia Romagna	21,00%	18,30%	17,20%
Piemonte	14,40%	12,40%	12,20%
Veneto	9,70%	10,00%	10,40%
Friuli-VG	2,20%	2,30%	2,70%
Umbria	1,20%	1,90%	1,70%
Marche	1,00%	0,70%	0,90%
Toscana	0,90%	0,80%	0,90%
Abruzzo	0,50%	1,10%	0,80%
Lazio	0,10%	0,10%	0,20%
Molise	0,03%	0,04%	0,05%
Non definibile	0,04%	0,01%	0,01%
Totale	100,00%	100,00%	100,00%

Fonte: Istituto Parma Qualità

Per quanto riguarda la distribuzione dei suini per tipo genetico, su dati 2003, emerge la prevalenza di suini derivanti da verro ibrido, pari al 50,2% del totale, cui seguono i suini figli meticci di verri di altre razze, con il 31,4% del totale. Inoltre, il 16,9% dei suini certificati è di tipo “Large White” o figlio di verro “Large White”, mentre solo l’1,9% dei suini certificati è di tipo “Landrace” o figlio di verro “Landrace”. Dalle dinamiche di allevamento così analizzate, deriva un conferimento annuo di circa 8 milioni di suini ai fini della DOP nel periodo 2001/2003, con un lieve incremento dell’approvvigionamento suino nel corso del triennio, che passa dai 7,5 milioni di suini conferiti nel 2001 agli 8,1 milioni di suini conferiti nel 2003, senza fenomeni di stagionalità marcata per mese dei conferimenti.

Tabella 4 – Distribuzione del tipo genetico prevalente certificato ai fini delle DOP (2003)

Tipo genetico certificato	% sul totale delle certificazioni
Large White o figlio di verro LW	16,50%
Landrace o figlio di verro LA	1,90%
Figlio meticcio di verri di altre razze	31,40%
Figlio di verro ibrido	50,20%
Totale	100,00%

Fonte: Istituto Parma Qualità

Per quanto riguarda l'approvvigionamento delle cosce suine ai fini della DOP del Prosciutto di Parma, dalle elaborazioni dei dati IPQ per il periodo 2001/2003, emerge un lieve incremento delle omologazioni. Nel periodo, sono stati infatti presentati all'omologa 10,4 milioni circa di prosciutti nel 2001, saliti a 10,8 circa nel 2002, ed infine a 11,2 nel 2003.

Di questi, sono stati mediamente giudicati non conformi da IPQ l'1% circa dei prosciutti, pari, in valore assoluto, ad un importo oscillante da 99mila prosciutti del 2001 a 85mila prosciutti del 2003. Accanto a questi prosciutti, devono essere considerati anche i prosciutti non omologati, per effetto dell'autocontrollo condotto nelle aziende, che oscillano da 1,34 milioni di prosciutti del 2001 a 1,44 milioni di prosciutti nel 2003.

Tabella 5 – *Approvvigionamento delle cosce suine fresche ai fini della DOP "Prosciutto di Parma" (2001/2003)*

periodo	Tot. presentato	Tot. non conforme	Tot. non omologato	Tot. omologato DOP	% omologato DOP
Totale Anno 2001	10.392.620	99.838	1.344.117	8.947.805	86,10%
Totale Anno 2002	10.849.802	90.720	1.386.070	9.373.199	86,39%
Totale Anno 2003	11.259.376	85.590	1.444.209	9.730.055	86,42%

Fonte: Istituto Parma Qualità

Per quanto riguarda il trend di produzione, i dati resi disponibili dall'Istituto Parma Qualità (IPQ) indicano un lieve incremento nel periodo 2001/2003, che passa dagli 8,9 milioni di cosce suine fresche avviate alla produzione nel 2001, ed omologate dall'Istituto Parma Qualità, ai 9,7 milioni di cosce suine avviate alla produzione nel corso del 2003.

Tabella 6 - *Numero di cosce suine omologate per la produzione della DOP "Prosciutto di Parma" (2001/2003)*

mese	Cosce fresche omologate nel 2001	Cosce fresche omologate nel 2002	Cosce fresche omologate nel 2003
Gennaio	733.936	748.225	802.716
Febbraio	688.147	692.019	727.294
Marzo	785.507	792.815	730.110
Aprile	746.615	753.798	820.279
Maggio	840.063	941.250	886.568
Giugno	746.846	784.316	772.169
Luglio	689.284	779.635	830.906
Agosto	774.626	796.024	759.072
Settembre	703.057	752.943	807.801
Ottobre	754.019	853.967	926.749
Novembre	797.294	734.532	796.562
Dicembre	688.411	743.675	869.829
Totale	8.947.805	9.373.199	9.730.055

Fonte: Istituto Parma Qualità

Infine, per quanto riguarda i controlli finali di conformità per l'apposizione del contrassegno DOP Prosciutto di Parma, sono stati controllati, nel periodo 2001/2003, circa 9 milioni di prosciutti per anno, con una lieve crescita, a 9,2 milioni circa, nel corso del 2003. Il controllo effettuato da IPQ sulle cosce presentate dai produttori, determina una quota di prosciutti stagionati non conformi, su cui non è quindi apposto il sigillo DOP.

I dati, resi disponibili da IPQ, indicano che ogni anno sono controllati circa 9 milioni di prosciutti stagionati. Di questi, una modesta quota, inferiore all'1% per anno, compresi tra i 59mila del 2002 ed i 108mila del 2003, sono stati giudicati non conformi da IPQ. Un'ulteriore quota è distolta dalla produzione per effetto stesso dell'attività di autocontrollo dei produttori, oscillante da 42mila del 2002 a 97mila del 2003. Le attività di controllo così articolate portano ad una conformità dei prosciutti stagionati che oscilla dal 98,83% dei prosciutti, per il 2003, al 99,32% dei prosciutti per il 2002.

Tabella 7 – *Controllo finale di conformità per l'apposizione del contrassegno della DOP "Prosciutto di Parma" sui prosciutti stagionati (2001/2003)*

Periodo	Prosciutti stagionati controllati	Prosciutti stagionati non conformi	Prosciutti stagionati distolti	Prosciutti stagionati conformi	% Conforme
Totale Anno 2001	9.085.313	67.111	56.379	9.018.202	99,26%
Totale Anno 2002	8.806.206	59.554	42.054	8.746.652	99,32%
Totale Anno 2003	9.267.469	108.138	97.392	9.159.331	98,83%

Fonte: Istituto Parma Qualità

Questa produzione determina un fatturato, per il comparto del Prosciutto di Parma DOP, pari a circa 810 milioni di Euro alla produzione nel 2003, che salgono a oltre a 1.060 milioni di Euro al consumo.

Tabella 8 – *Controllo sulla elaborazione di prosciutto affettato e preconfezionato con l'uso della DOP "Prosciutto di Parma" (2001/2003)*

mese	Anno 2001		Anno 2002		Anno 2003	
	N. prosciutti affettati	N. confezioni prodotte	N. prosciutti affettati	N. confezioni prodotte	N. prosciutti affettati	N. confezioni prodotte
Gennaio	23.787	1.291.009	23.648	1.334.538	27.095	1.510.394
Febbraio	19.986	1.117.102	24.668	1.320.422	28.318	1.576.729
Marzo	26.474	1.456.216	28.733	1.493.180	33.393	1.848.162
Aprile	31.747	1.721.304	28.456	1.484.020	38.480	2.174.203
Maggio	32.417	1.727.408	36.087	1.918.512	39.336	2.177.262
Giugno	35.001	1.798.960	33.231	1.779.710	40.760	2.256.664
Luglio	35.793	1.969.320	43.939	2.350.753	47.661	2.697.756
Agosto	35.427	1.902.974	35.760	1.903.454	40.273	2.242.745
Settembre	27.598	1.471.970	31.365	1.684.076	36.451	2.021.371
Ottobre	28.745	1.516.409	32.768	1.853.060	29.313	1.634.122
Novembre	28.358	1.546.072	30.843	1.656.772	32.672	1.742.973
Dicembre	32.083	1.648.000	33.148	1.736.244	42.325	2.223.112
Totale	357.416	19.166.744	382.646	20.514.741	436.077	24.105.493
anno						

Fonte: Istituto Parma Qualità

Dal punto di vista dell'analisi delle tendenze di consumo, è interessante notare l'incremento registrato negli ultimi anni nel consumo del Prosciutto di Parma affettato, e confezionato in vaschette per la vendita nel banco frigorifero presso la distribuzione. Emerge come nel 2001 siano stati affettati circa 357mila prosciutti, mentre nel 2003 sono stati affettati circa 436mila prosciutti, con una produzione, in termini di confezioni di Prosciutto di Parma affettato in crescita da circa 19 milioni di confezioni del 2001, a circa 24 milioni di confezioni del 2003. Il dato assume interesse in quanto esprime, anche per il Prosciutto di Parma, il cambiamento della domanda, sempre più attenta, oltre che alla qualità e alla sicurezza degli alimenti, anche alla facilità di consumo e alla presenza di servizi acclusi al bene. Nello specifico il servizio di affettazione semplifica il consumo del prosciutto, in particolare nei mercati esteri dove il processo di affettazione presso il punto vendita, o compiuto direttamente dal consumatore, non sempre è fatto con la dovuta perizia, e penalizza la vendita al dettaglio al consumo finale.

3 - Conclusioni

Il comparto della lavorazione delle carni suine assume un peso notevole nel complesso del sistema economico della provincia di Parma. In particolare, nei comuni della prima cintura collinare a sud del capoluogo, vi è una rilevante concentrazione

di impianti per la trasformazione della coscia fresca di suino in Prosciutto di Parma DOP. Questa concentrazione, che si unisce ad un notevole peso di attività di indotto e servizio all'attività dei prosciuttifici, determina la presenza di un distretto delle lavorazioni delle carni in questi comuni. Accanto alla produzione di Prosciutto di Parma DOP vi è pure una consistente produzione di altri salumi, tra questi i prosciutti "esteri", che consentono alle aziende del comparto di attuare una strategia di differenziazione delle produzioni e utilizzazione della capacità produttiva degli impianti. Attraverso queste produzioni i prosciuttifici cercano di accelerare, almeno in parte, il ciclo produttivo, per rendere meno pesanti i frequenti problemi di sottocapitalizzazione, aggravati dal lungo periodo di stagionatura che amplifica le necessità di finanza a sostegno del ciclo gestionale. Il Prosciutto di Parma, con i suoi 9 milioni di pezzi annui prodotti, rappresenta la produzione portante del territorio ed è supportato da un sistema di certificazione della qualità della sicurezza alimentare attraverso l'azione del Consorzio del Prosciutto di Parma e l'attività di controllo dell'Istituto Parma Qualità. Quest'ultimo ente, in particolare, si fa carico del complesso delle attività di controllo sulla filiera del Prosciutto di Parma, dall'allevamento sino al termine della stagionatura, in modo tale da garantire al consumatore la qualità del prosciutto posto in vendita, e la rispondenza del prosciutto ai criteri definiti dal Disciplinare di produzione, su cui si basa l'attribuzione del marchio DOP. L'attività si sostanzia in un'insieme di controlli e di verifiche di conformità dell'allevamento, della macellazione e della produzione salumiera, in modo tale da garantire la tracciabilità e l'osservanza delle disciplinarie di produzione in tutte le fasi della filiera. Fondamentale risulta quindi l'attività di controllo, per assicurare la differenziazione qualitativa delle produzioni. Importante risulta tuttavia anche, a livello aziendale, un sempre più efficiente controllo di gestione, per linea di prodotto, per area gestionale e per canale di distribuzione, al fine di rendere esplicita la redditività delle diverse aree gestionali del prosciuttificio, e per assumere su dati oggettivi le decisioni strategiche di gestione aziendale. Oggi infatti, le aziende attive nel comparto dei prosciuttifici risentono in maniera sensibile del potere contrattuale dei clienti, cioè delle catene della distribuzione, e dei fornitori. Queste dinamiche concorrenziali, unite all'ingresso nel comparto di alcuni grandi gruppi della trasformazione, stanno avviando un processo di espulsione dal mercato delle piccole aziende a connotazione artigianale, caratterizzate dall'impossibilità di sfruttare economie di scala, di tipo produttivo e finanziario. Queste aziende possono operare con profitto solo con una strategia di differenziazione e di qualità, volta a perseguire il riconoscimento del prodotto, al fine di un posizionamento su mercati, e presso nicchie di consumo, in grado di remunerare adeguatamente gli investimenti necessari ed i costi di gestione sostenuti per la produzione del Prosciutto di Parma.

Bibliografia

Bonazzi G., (2002) *"Aspetti della gestione delle imprese agroindustriali: il prosciuttificio in provincia di Parma"*, *Supplemento all'avvenire Agricolo*, n. 6.

IPQ, INEQ (2002), *"Certificare l'origine della qualità"*, IPQ, INEQ, Parma.

ISMEA, FEDERALIMENTARE (2003), *“Il sistema agroalimentare italiano: profili di uno scenario globale”*, ISMEA-FEDERALIMENTARE, Roma.

Sommario

L'economia della provincia di Parma è caratterizzata dall'importanza del settore dei prodotti agroalimentari, delle macchine e degli impianti per la lavorazione dei prodotti alimentari. L'industria alimentare, nel 2003, con un fatturato di 6.100 milioni di Euro, di cui 730 milioni di Euro sul canale export, si conferma il primo comparto industriale della provincia di Parma. Il comparto della lavorazione delle carni, con 1.500 milioni di Euro, è uno dei maggiori dell'agroalimentare provinciale. A Parma assume grande rilievo la lavorazione della coscia suina, per la produzione di salumi, tra cui il Prosciutto di Parma che ha ottenuto l'attribuzione della Denominazione di Origine Protetta (DOP) nel 1996. Oltre al Consorzio del Prosciutto di Parma, opera l'Istituto Parma Qualità (IPQ), che ha la finalità di svolgere, ai sensi dell'art. 10 del Regolamento 2081/92, i controlli necessari sul Prosciutto di Parma. L'attività si sostanzia nel controllo dei requisiti di origine e di conformità della materia prima e del processo produttivo, a monte della filiera, e sul controllo dei requisiti di conformità e di qualità del prodotto. Tuttavia, accanto ai controlli di filiera, hanno un peso crescente, a livello aziendale, i controlli di gestione, per linea di prodotto, per area gestionale e per canale di distribuzione, al fine di rendere esplicita la redditività delle diverse aree gestionali del prosciuttificio.

Summary - “Prosciutto di Parma” DOP (Parma Ham PDO) and control systems

The economy of the province of Parma is distinguished by the importance of the agrifood and food processing machinery sectors. In 2003, the food industry, with a turnover of 6,100 million Euro, 730 million of which deriving from exports, confirmed its position as leading industrial sector of the province of Parma. The meat processing sector, with a turnover of 1,500 million Euro, is one of the largest agrifood sectors of the province. In Parma, pork leg processing is of major importance for the production of cured meats, such as Prosciutto di Parma (Parma ham), which was awarded PDO status (Protected Designation of Origin) in 1996. In addition to the Consorzio del Prosciutto di Parma there is also the Istituto Parma Qualità (IPQ), the purpose of which is to run the necessary checks on the Prosciutto di Parma produced, under the terms of art.10 of Regulation 2081/92. This activity involves controlling the requirements regarding the origin and conformity of the raw materials and their production process upstream of the production chain itself, and then controlling the conformity and quality of the final product; In addition to the production chain controls, however, companies are putting increasingly stronger emphasis on management controls per product line, per management area and per distribution channel with a view to measuring the profitability of the various management areas of the prosciutto processing plant.

Résumé - Le “Prosciutto di Parma” DOP (Jambon de Parme AOP) et le système de contrôle

L'économie de la province de Parme est caractérisée par l'importance des secteurs agroalimentaire et des machines/installations de fabrication de produits alimentaires. En 2003, l'industrie alimentaire avec son chiffre d'affaires de 6 100 millions d'euros, dont 730 millions pour les exportations, a confirmé être au premier rang dans le secteur industriel de la province de Parme. Le traitement de la viande, avec un chiffre d'affaires de 1 500 millions d'euros, est l'un des principaux secteurs agroalimentaires de la province. À Parme, le traitement de la cuisse de porc est d'une importance particulière pour la production de charcuterie telle que le Prosciutto di Parma (jambon de Parme) qui a bénéficié du label AOP (Appellation d'Origine protégée) en 1996. Mais le Consorzio del Prosciutto di Parma n'agit pas seul : l'Istituto Parma Qualità (IPQ) a également pour but d'effectuer les contrôles nécessaires sur le Jambon de Parme, aux termes de l'article 10 du Règlement 2081/92. Cette activité consiste à contrôler, en amont de la chaîne de production, les conditions relatives à l'origine, la conformité des matières premières et au processus de production et les conditions relatives à la conformité et qualité du produit final. Parallèlement aux contrôles de la chaîne de production, les exploitations donnent toutefois une importance de plus en plus forte aux contrôles de gestion de la ligne de produit, la zone d'administration et du canal de distribution, dans le but de calculer la rentabilité des diverses zones d'administration de l'unité de production de jambons.

Parole chiave

Prosciutto di Parma, Parma Ham, Jambon de Parme
Controlli DOP, PDO controls, Contrôles AOP
Qualità e sicurezza alimentare, Quality and food safety, Qualité et sécurité alimentaire

L'ALLEVAMENTO BOVINO NELLA COLLINA E MONTAGNA PARMENSE: DATI CENSUARI E RISULTATI ECONOMICI DI UN CAMPIONE DI AZIENDE¹

Giuseppe Bonazzi, Giovanni Ferri, Mattia Iotti²

1 - Premessa

Nel corso degli anni recenti si sono avuti profondi cambiamenti nel settore primario della provincia di Parma. I fenomeni di maggior rilievo sono stati la riduzione del numero delle aziende e degli addetti, l'abbandono delle aree meno favorite e una più accentuata specializzazione produttiva.

In tale contesto, si è proceduto ad un'analisi dei dati degli ultimi censimenti dell'agricoltura relativi alla provincia di Parma, suddivisi per fascia altimetrica e pure aggregando i dati per aree amministrative; si è fatto riferimento alle due Comunità Montane presenti: la Comunità Montana delle Valli del Taro e del Ceno e la Comunità Montana Parma Est, che interessa le valli del torrente Parma e dell'alta Val d'Enza. Si è provveduto inoltre ad analizzare i dati contabili di un campione di 10 aziende della collina e montagna parmense, attive nel comparto della zootecnia bovina, evidenziando il dato sulla base dell'indirizzo produttivo prevalente, da latte o da carne. Per le aziende ad indirizzo produttivo prevalente da latte si è fatto riferimento anche alla dimensione dell'allevamento, formando due ulteriori gruppi, uno fino a 100 vacche e uno oltre 100 vacche.

La finalità è quella di evidenziare, attraverso l'analisi dei dati rilevati dai censimenti l'evoluzione degli ultimi vent'anni dell'agricoltura di Parma, e verificare, attraverso l'analisi dei dati contabili del campione di aziende, la sostenibilità dell'attività zootecnica in area collinare e montana, aree che maggiormente hanno sofferto dell'abbandono dell'attività produttiva agricola.

2 - Analisi dei dati censuari

Sulla base dei dati rilevati nei censimenti, e attraverso il loro confronto, emerge un significativo cambiamento dell'agricoltura in provincia di Parma, nel corso dell'ultimo ventennio. Infatti, dal 1982 ad oggi, il numero di aziende agrarie

¹ Lo studio è frutto di un lavoro comune dei tre autori. Tuttavia in sede di stesura del testo Giuseppe Bonazzi ha redatto i paragrafi 1, 2, 5, Giovanni Ferri ha redatto il paragrafo 3 e Mattia Iotti ha redatto il paragrafo 4.

² Sezione Risorse del Territorio, Dipartimento di Salute Animale, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Parma

è sceso del 52,47%, con una contrazione maggiore, pari al 66,08%, nella fascia altimetrica di montagna, dove le aziende sono passate da 8.352 a 2.833, nel periodo 1982/2000.

Tabella 1 – Numero aziende agrarie in Provincia di Parma per fascia altimetrica

Fascia altimetrica	Anno			variazione %		
	1982	1990	2000	1982/1990	1990/2000	1982/2000
Montagna	8.352	6.436	2.833	-22,94	-55,98	-66,08
Collina	8.048	6.287	4.375	-21,88	-30,41	-45,64
Pianura	6.763	5.659	3.801	-16,32	-32,83	-43,80
Totale provincia	23.163	18.382	11.009	-20,64	-40,11	-52,47

Fonte: elaborazioni su dati ISTAT

Nello stesso periodo, la diminuzione delle aziende, è stata pari al 45,64% in collina ed al 43,80% in pianura. La contrazione del numero delle aziende ha mostrato, peraltro, una notevole accelerazione nell'ultimo decennio, ed infatti, nel periodo 1990/2000 la diminuzione delle aziende agrarie in provincia di Parma è stata del 40,11%. La contrazione è stata ancor più significativa nella montagna parmense, con una diminuzione del 55,98% del numero delle aziende in un solo decennio, rispetto a quella rilevata nel periodo 1982/1990, che è stata pari al 22,94%. Si rileva inoltre come la contrazione del numero delle aziende agrarie risulti differenziata per comune, e anche per area amministrativa di riferimento. Nei territori della Comunità Montana Parma Est la diminuzione del numero delle aziende è stata del 67,13% nell'ultimo ventennio, mentre nella Comunità Montana delle Valli del Taro e del Ceno, la contrazione è stata del 56,93%. Per quanto riguarda la contrazione del numero delle aziende per comune, in alcuni ambiti comunali, come nei comuni di Bedonia, Corniglio, Palanzano, Tornolo la contrazione è stata particolarmente elevata, superiore anche all'80%.

Tabella 2 - Numero aziende agrarie in Provincia di Parma per area amministrativa

Zona amministrativa	Anno			variazione %		
	1982	1990	2000	1982/1990	1990/2000	1982/2000
Com. Mont. Taro e Ceno	8.034	6.599	3.460	-17,86	-47,57	-56,93
Com. Mont. Parma Est	4.822	3.244	1.585	-32,73	-51,14	-67,13
Altre zone amministrative	10.307	8.539	5.964	-17,15	-30,16	-42,14
TOTALE	23.163	18.382	11.009	-20,64	-40,11	-52,47

Fonte: elaborazioni su dati ISTAT

Anche la superficie agraria utilizzata (SAU) della provincia di Parma, che si attesta a 134.125 ettari, ha mostrato una flessione marcata e, infatti, nel periodo 1982/2000, la SAU provinciale è scesa del 22,80%, con una contrazione del 18,92% nell'ultimo intervallo censuario 1990/2000. Anche per quanto riguarda la SAU, la diminuzione è differenziata per fascia altimetrica, infatti, nella montagna parmense,

la superficie è diminuita del 54,28% dal 1982 al 2000, con una contrazione del 48,12% rispetto al 1990. Meno marcata è stata la contrazione della superficie in collina, pari al 9,84%, ed in pianura, pari al 8,18%. Anche in questo caso la diminuzione è avvenuta soprattutto rispetto al 1990. Risulta pertanto, anche nel territorio della provincia di Parma, una contrazione dell'attività agricola maggiore nella fascia altimetrica di montagna.

Tabella 3 - SAU (ha) in Provincia di Parma per fascia altimetrica

Fascia altimetrica	Anno			variazione %		
	1982	1990	2000	1982/1990	1990/2000	1982/2000
Montagna	53.074	46.764	24.263	-11,89	-48,12	-54,28
Collina	56.514	55.499	50.956	-1,80	-8,19	-9,84
Pianura	64.154	63.165	58.906	-1,54	-6,74	-8,18
TOTALE	173.742	165.428	134.125	-4,79	-18,92	-22,80

Fonte: elaborazioni su dati ISTAT

Dall'analisi delle dinamiche della superficie agraria utile (SAU) per aree amministrative, nella Comunità Montana Parma Est si è registrata una contrazione della SAU pari al 43,85% nel periodo 1982/2000, mentre nella Comunità Montana delle Valli del Taro e del Ceno, la contrazione della superficie agraria è stata del 39,44%. In entrambi gli ambiti amministrativi, la contrazione della SAU è stata decisamente superiore alla media provinciale, tuttavia è da rilevare come nel territorio della Comunità Montana Parma Est questa tendenza si sia manifestata prima ed in modo più sensibile.

Tabella 4 - SAU (ha) in Provincia di Parma per area amministrativa

Area amministrativa	Anno			variazione %		
	1982	1990	2000	1982/1990	1990/2000	1982/2000
Com. Mont. Taro e Ceno	50.495	48.002	30.581	-4,94	-36,29	-39,44
Com. Mont. Parma Est	30.047	25.352	16.872	-15,62	-33,45	-43,85
Restante territorio	93.201	92.074	86.672	-1,21	-5,87	-7,01
Totale provincia	173.742	165.428	134.125	-4,79	-18,92	-22,80

Fonte: elaborazioni su dati ISTAT

La contrazione della superficie risulta differenziata per comune, ed infatti in alcuni comuni, come Bedonia, Bore, Corniglio, Monchio delle Corti e Solignano la contrazione raggiunge anche il 90% nel ventennio 1982/2000, mentre in altri ambiti comunali la contrazione della SAU è stata decisamente inferiore, come nei comuni di Albareto, Bardi, Compiano, Tizzano Val Parma e Valmozzola.

Da rilevare pure l'incremento della superficie media aziendale che passa dai 7,50 ettari per azienda del 1982 ai 12,18 ettari per azienda nel 2000.

Tabella 5 - SAU (ha) media per azienda in Provincia di Parma per fascia altimetrica

Fascia altimetrica	Anno			variazione %		
	1982	1990	2000	1982/1990	1990/2000	1982/2000
Montagna	6,35	7,27	8,56	14,34	17,87	34,78
Collina	7,02	8,83	11,65	25,71	31,94	65,86
Pianura	9,49	11,16	15,50	17,67	38,84	63,37
Totale provincia	7,50	9,00	12,18	19,98	35,38	62,42

Fonte: elaborazioni su dati ISTAT

È interessante notare come la tendenza all'incremento risulti estremamente differenziata per fascia altimetrica. Infatti, in pianura, si ha una SAU media di 15,50 ettari nel 2000, rispetto ai 9,49 nel 1982, e si ha, nei territori di collina, una SAU media di 11,65 ettari nel 2000, rispetto ai 7,02 nel 1982. Nella montagna parmense l'incremento della dimensione aziendale media risulta più contenuto, con una crescita della SAU media da 6,35 ettari rilevati nel 1982 a 8,56 ettari nel 2000. Dal dato emerge, oltre ad una dimensione aziendale media nei territori di montagna decisamente inferiore alla media provinciale, anche una tendenza all'incremento meno accentuata della superficie media per azienda nella montagna parmense, rispetto a quanto rilevato nelle zone altimetriche di pianura e collina. Anche per quanto riguarda la superficie media per azienda emerge, nella fascia altimetrica di montagna, un dato differenziato per Comunità Montana.

Tabella 6 - SAU (ha) media per azienda in Provincia di Parma per area amministrativa

Area amministrativa	Anno			variazione %		
	1982	1990	2000	1982/1990	1990/2000	1982/2000
Com. Mont. Taro e Ceno	6,29	7,27	8,84	15,74	21,50	40,62
Com. Mont. Parma Est	6,23	7,81	10,64	25,42	36,21	70,83
Restante territorio	9,04	10,78	14,53	19,25	34,78	60,71
Totale provincia	7,50	9,00	12,18	19,98	35,38	62,42

Fonte: elaborazioni su dati ISTAT

Infatti, nella Comunità Montana delle Valli del Taro e del Ceno, la superficie media per azienda agraria è pari a 8,84 ettari sulla base dei dati censuari 2000, mentre era di 6,29 ettari nel 1982. Nella Comunità Montana dell'Appennino Parma Est la dimensione media per azienda è di 10,64 ettari, rispetto ai 6,23 ettari del 1982. Le differenze di superficie media emergono anche su base comunale tra territori delle due Comunità Montane. Infatti, in alcuni comuni si registra una superficie media per azienda superiore ai 10 ettari, come nei comuni di Albereto, Bardi, Corniglio e Tizzano Val Parma. Di contro, nella gran parte dei comuni montani, la superficie agraria utile aziendale permane ridotta, al di sotto dei 10 ettari per azienda ed in un caso, nel Comune di Valmozzola, al di sotto dei 5 ettari per azienda.

Anche per quanto riguarda l'analisi delle aziende ad indirizzo zootecnico

bovino, dall'analisi e dall'elaborazione dei dati censuari emerge come, nel complesso del territorio provinciale, la riduzione del numero delle aziende ad indirizzo zootecnico sia stata molto significativa, con una diminuzione del 66,58% sul complesso del territorio provinciale nel periodo 1982/2000. Nella provincia di Parma, le aziende con bovini sono infatti diminuite da 8.109 del 1982 a 2.710 del 2000. La contrazione è stata particolarmente accentuata nel decennio 1990/2000, pari ad una diminuzione del 47,54%. La contrazione, significativa in ogni ambito territoriale, assume tuttavia un peso percentuale differenziato per fascia altimetrica. Infatti, la contrazione del numero delle aziende zootecniche, nel periodo 1982/2000, è stata del 72,83% nel territorio montano della provincia. Emerge quindi, anche nell'ambito della zootecnia bovina, che la contrazione del numero delle aziende nel complesso della provincia penalizza particolarmente i territori di montagna.

Tabella 7 - Numero delle aziende con allevamento bovino in Provincia di Parma per fascia altimetrica

Fascia altimetrica	Anno			variazione %		
	1982	1990	2000	1982/1990	1990/2000	1982/2000
Montagna	2.440	1.341	663	-45,04	-50,56	-72,83
Collina	2.755	1.832	999	-33,50	-45,47	-63,74
Pianura	2.914	1.993	1.048	-31,61	-47,42	-64,04
Totale provincia	8.109	5.166	2.710	-36,29	-47,54	-66,58

Fonte: elaborazioni su dati ISTAT

Anche analizzando il dato per area amministrativa, emerge che nella Comunità Montana delle Valli del Taro e del Ceno, la contrazione delle aziende con bovini è stata del 71,01% nel periodo 1982/2000, con una diminuzione del numero delle aziende da 2.439 nel 1982 a 707 nel 2000. Anche nella Comunità Montana Parma Est la contrazione è stata marcata, con una diminuzione da 1.333 aziende nel 1982 a 448 nel 2000, con una riduzione, in questo caso, del 66,39%. In ambito comunale la zootecnia bovina di montagna ha mostrato una contrazione differenziata, pur in una tendenza complessiva di riduzione. Ad esempio, nel comune di Borgo Val di Taro, nel 2000, sono state censite 81 aziende bovine, con una contrazione del 68,92% rispetto al 1982, in linea con la contrazione media rilevata in provincia, pari al 66,58% nello stesso periodo.

Tabella 8 - Numero delle aziende con allevamento bovino in Provincia di Parma per area amministrativa

Area amministrativa	Anno			variazione %		
	1982	1990	2000	1982/1990	1990/2000	1982/2000
Com. Mont. Taro e Ceno	2.439	1.382	707	-43,34	-48,84	-71,01
Com. Mont. Parma Est	1.333	818	448	-38,63	-45,23	-66,39
Restante territorio	4.337	2.966	1.555	-31,61	-47,57	-64,15
Totale provincia	8.109	5.166	2.710	-36,29	-47,54	-66,58

Fonte: elaborazioni su dati ISTAT

Diversa appare la situazione in altri comuni, come Bore, Compiano, Monchio delle Corti, Tornolo e Varsi, dove la contrazione delle aziende ha superato il 90% in un ventennio, e le aziende a zootecnia bovina, in alcuni casi, sono di poco superiori alle 10 unità per ambito comunale.

Sempre nel comparto della zootecnia bovina emerge, nel complesso del territorio provinciale, una contrazione che interessa anche il numero dei capi, scesi dai 198.993 del 1982 ai 157.212 del censimento 2000, con una contrazione del 21,00%. La contrazione è stata particolarmente elevata nell'ultimo decennio, e pari al 17,89%.

Tabella 9 - Numero dei capi bovini in Provincia di Parma per fascia altimetrica

Fascia altimetrica	Anno			variazione %		
	1982	1990	2000	1982/1990	1990/2000	1982/2000
Montagna	23.044	18.848	14.735	-18,21	-21,82	-36,06
Collina	65.490	65.239	58.404	-0,38	-10,48	-10,82
Pianura	110.459	107.374	84.073	-2,79	-21,70	-23,89
TOTALE	198.993	191.461	157.212	-3,79	-17,89	-21,00

Fonte: elaborazioni su dati ISTAT

Il dato risulta differenziato per fascia altimetrica, con una riduzione del numero dei capi bovini minore in collina, 65.490 capi nel 1982 e 58.404 nel 2000 (-10,82%), e in pianura, 110.459 capi nel 1982 e 84.073 capi nel 2000 (-23,89%). Nella montagna parmense, il numero dei capi bovini è passato da 23.044 capi nel 1982 a 14.735 capi nel 2000, con una riduzione, nel periodo considerato, del 36,06%. Da rilevare tuttavia come la montagna abbia anticipato la contrazione del numero dei capi e, infatti, nel periodo 1982/1990, si è registrata una riduzione del 18,21% a fronte di una stabilità per pianura e collina. Nel decennio successivo è proseguita in montagna la riduzione dei capi (-21,82%), in pianura (-21,70%), in collina (-10,48%).

La riduzione dei capi bovini risulta particolarmente marcata nella Comunità Montana delle Valli del Taro e del Ceno, dove la consistenza dei capi bovini è scesa del 28,07% nel periodo 1982/2000, e del 21,53% nel periodo 1990/2000, mentre nella Comunità Montana Parma Est la riduzione dei capi bovini è stata meno marcata, e pari al 9,75% nel periodo 1982/2000, e del 4,44% nel periodo 1990/2000. Nel restante territorio la riduzione è stata del 21,23% nel periodo 1982/2000 con una riduzione del 18,98% nel periodo 1990/2000.

Tabella 10 - Numero dei capi bovini in Provincia di Parma per area amministrativa

Area amministrativa	Anno			variazione %		
	1982	1990	2000	1982/1990	1990/2000	1982/2000
Com. Mont. Taro e Ceno	26.457	24.253	19.031	-8,33	-21,53	-28,07
Com. Mont. Parma Est	19.763	18.664	17.836	-5,56	-4,44	-9,75
Restante territorio	152.773	148.544	120.345	-2,77	-18,98	-21,23
Totale provincia	198.993	191.461	157.212	-3,79	-17,89	-21,00

Fonte: elaborazioni su dati ISTAT

Le tendenze sopra esposte hanno comportato un incremento della mandria bovina aziendale. Infatti, nel complesso del territorio provinciale, nel 1982, il patrimonio bovino medio per azienda era di 24,54 capi, che sale a 58,01 capi per azienda sulla base dei dati censuari 2000.

Tabella 11 - Numero medio dei capi bovini per azienda agraria in Provincia di Parma per fascia altimetrica

Fascia altimetrica	Anno			variazione %		
	1982	1990	2000	1982/1990	1990/2000	1982/2000
Montagna	9,44	14,06	22,22	48,82	58,12	135,33
Collina	23,77	35,61	58,46	49,81	64,17	145,94
Pianura	37,91	53,88	80,22	42,13	48,90	111,63
Totale provincia	24,54	37,06	58,01	51,03	56,53	136,40

Fonte: elaborazioni su dati ISTAT

Le aziende di dimensioni maggiori sono localizzate in pianura, con 80,22 capi medi per azienda, ed in collina, con 58,46 capi per azienda. In montagna, pur con un incremento rispetto ai 9,44 capi medi per azienda del 1982, il dato di consistenza bovina media rimane ben al di sotto della media provinciale, e si assesta a 22,22 capi medi per azienda nel 2000.

Anche tra le diverse aree amministrative si rilevano differenze nella dimensione aziendale media della mandria bovina.

Tabella 12 - Numero medio dei capi bovini per azienda agraria in Provincia di Parma per area amministrativa

Area amministrativa	Anno			variazione %		
	1982	1990	2000	1982/1990	1990/2000	1982/2000
Com. Mont. Taro e Ceno	10,85	17,55	26,92	61,78	53,39	148,15
Com. Mont. Parma Est	14,83	22,82	39,81	53,90	74,49	168,53
Restante territorio	35,23	50,08	77,39	42,18	54,53	119,71
Totale provincia	24,54	37,06	58,01	51,03	56,53	136,40

Fonte: elaborazioni su dati ISTAT

Nella Comunità Montana delle Valli del Taro e del Ceno la consistenza bovina media per azienda è 26,92 capi per azienda, contro i 39,81 capi medi per azienda della Comunità Montana Parma Est, mentre il dato sale a 77,39 capi bovini medi per azienda nel restante territorio della provincia.

Rilevante è poi la contrazione del numero delle giornate lavorative in agricoltura, tanto nel complesso della provincia, quanto nel solo territorio della montagna parmense. Infatti, nel corso del 2000, nelle aziende agrarie della provincia di Parma si sono svolte 2,7 milioni di giornate di lavoro circa, in deciso calo rispetto ai circa 5,8 milioni di giornate svolte nel 1982, pari ad una contrazione del 53,23%.

Tabella 13 - Numero giornate lavorative in agricoltura in Provincia di Parma per fascia altimetrica

Fascia altimetrica	Anno			variazione %		
	1982	1990	2000	1982/1990	1990/2000	1982/2000
Montagna	1.134.391	719.688	479.321	-36,56	-33,40	-57,75
Collina	1.986.042	1.304.275	1.096.686	-34,33	-15,92	-44,78
Pianura	2.766.466	1.716.003	1.177.425	-37,97	-31,39	-57,44
Totale provincia	5.886.899	3.739.966	2.753.432	-36,47	-26,38	-53,23

Fonte: elaborazioni su dati ISTAT

La contrazione del numero delle giornate ha interessato, in particolare, la montagna parmense, con una diminuzione delle giornate di lavoro del 57,75% nel periodo 1982/2000. Anche nelle restanti zone altimetriche, tuttavia, la contrazione delle giornate di lavoro è stata rilevante. In collina, le giornate sono scese del 44,78%, sempre nel periodo 1982/2000, mentre in pianura la contrazione si è assestata al 57,44%, ad un livello simile a quanto rilevato nella zona montana della provincia.

Emerge quindi, nel complesso, una notevole perdita di giornate di lavoro in agricoltura nel periodo considerato, che evidenzia, insieme ai dati relativi ad aziende e superfici, già analizzati, una contrazione notevole del livello di attività in agricoltura nel periodo considerato, ed indica la riduzione dell'occupazione nel settore agricolo all'interno del sistema economico provinciale.

Tabella 14 - Numero giornate lavorative in agricoltura in Provincia di Parma per area amministrativa

Area amministrativa	Anno			variazione %		
	1982	1990	2000	1982/1990	1990/2000	1982/2000
Com. Mont. Taro e Ceno	1.256.912	778.069	601.688	-38,10	-22,67	-52,13
Com. Mont. Parma Est	756.794	531.071	370.993	-29,83	-30,14	-50,98
Restante territorio	3.873.193	2.430.826	1.780.751	-37,24	-26,74	-54,02
Totale provincia	5.886.899	3.739.966	2.753.432	-36,47	-26,38	-53,23

Fonte: elaborazioni su dati ISTAT

L'età media del conduttore dell'azienda agraria risulta decisamente elevata, in tutti gli ambiti territoriali della provincia di Parma. Per quanto riguarda l'età media del conduttore, è di 61,06 anni nel complesso del territorio provinciale, sulla base del censimento 2000, dato che sale a 61,91 anni nel territorio di montagna.

Tabella 15 - Età media del conduttore delle aziende agrarie in Provincia di Parma per fascia altimetrica

Fascia altimetrica	Anno			variazione %		
	1982	1990	2000	1982/1990	1990/2000	1982/2000
Montagna	61,12	62,30	61,91	1,93	-0,63	1,29
Collina	59,05	60,09	60,85	1,76	1,26	3,05
Pianura	60,01	61,58	60,51	2,62	-1,74	0,83
Totale provincia	59,60	61,24	61,06	2,75	-0,29	2,45

Fonte: elaborazioni su dati ISTAT

Il dato fa riflettere sul problema del ricambio generazionale che potrà investire un numero crescente di aziende nei prossimi anni, determinando un ulteriore calo delle aziende presenti sul territorio della provincia. Il fatto risulta particolarmente rilevante per le conseguenze che potrà avere nei territori collinari e montani in quanto questa tendenza non solo assume rilievo ai fini dell'ulteriore perdita di peso del settore agricolo sul complesso del sistema economico locale, ma potrà determinare un'ulteriore perdita di presidio del territorio, a seguito dell'abbandono dell'attività agricola.

Tabella 16 - Età media del conduttore delle aziende agrarie in Provincia di Parma per area amministrativa

Area amministrativa	Anno			variazione %		
	1982	1990	2000	1982/1990	1990/2000	1982/2000
Com. Mont. Taro e Ceno	61,21	62,53	61,87	2,16	-1,06	1,08
Com. Mont. Parma Est	60,28	61,60	60,49	2,19	-1,80	0,35
Restante territorio	58,02	60,10	60,75	3,58	1,08	4,71
Totale provincia	59,60	61,24	61,06	2,75	-0,29	2,45

Fonte: elaborazioni su dati ISTAT

3 - Il campione di aziende con allevamento bovino

Al fine di analizzare la situazione attuale del settore primario, in area collinare e montana, è stata condotta, un'analisi relativa a casi di aziende zootecniche con allevamento bovino, localizzate nel territorio della collina e montagna parmense, in particolare nell'ambito delle valli dei fiumi Taro e Ceno, nella zona sud-ovest del territorio della provincia di Parma.

La rilevazione aziendale è avvenuta attraverso rilievi dei dati della contabilità aziendale, relativi all'annata agraria 2002, e interviste al conduttore dell'azienda. Nella definizione del campione aziendale sono state considerate alcune variabili quali la localizzazione in territorio collinare e montano, l'indirizzo produttivo zootecnico con allevamento bovino e la presenza di un giovane in azienda, o di una persona che possa garantire la continuità produttiva. Nella scelta del campione aziendale è stata considerata anche la variabile dimensionale, ed a tal proposito sono state considerate aziende di dimensione maggiore rispetto al dato medio provinciale. Infatti, dal punto di vista dell'analisi strutturale, la SAU media delle aziende incluse nel campione è di circa 77 ettari e quindi superiore alla dimensione media della montagna e collina parmense, ed alla dimensione media per azienda della provincia di Parma, pari a 12,18 ettari per azienda, su dati censuari 2000.

Nelle 10 aziende del campione si rileva un discreto livello di formazione e di preparazione tecnica. Emerge infatti che 1 imprenditore è laureato, 3 sono diplomati e 6 sono in possesso della licenza media inferiore. Per quanto riguarda le esperienze professionali, 9 imprenditori su 10 hanno svolto l'intero percorso professionale in agricoltura, mentre solo 1 imprenditore su 10 ha svolto attività al di fuori del settore agricolo.

Per quanto riguarda le forme contrattuali di produzione, 7 delle aziende con indirizzo produttivo allevamento bovino da latte conferiscono la produzione al caseificio sociale, per la successiva trasformazione in formaggio Parmigiano Reggiano, mentre un'azienda conferisce il latte al caseificio privato, con pagamento del latte con il metodo del prezzo di riferimento, metodo che rende il produttore coinvolto nelle quotazioni del formaggio Parmigiano Reggiano.

Le 2 aziende che allevano bovini da carne invece vendono i capi allevati solitamente a commercianti di bestiame con una valutazione a vista degli animali. Tutte le aziende del campione hanno una produzione, seppur limitata di cereali. In questo caso la commercializzazione avviene tramite grossisti. Le 2 aziende con allevamento bovino da carne hanno produzioni biologiche e commercializzano come tali i capi bovini.

Ai fini di analizzare con maggiore dettaglio i dati derivanti dai casi aziendali considerati, si è inoltre proceduto a suddividere il campione in 3 gruppi, sulla base dell'attività economica prevalente. Nel primo gruppo, composto da 6 aziende, sono state incluse le aziende che hanno indirizzo produttivo zootecnico con allevamento bovino da latte con meno di 100 vacche per azienda. Nel secondo gruppo, composto da 2 aziende, sono state incluse le aziende che hanno indirizzo produttivo zootecnico con allevamento bovino da latte con più di 100 vacche per azienda. Infine, nel terzo gruppo, composto da 2 aziende, sono state incluse le aziende che hanno indirizzo produttivo zootecnico con allevamento bovino da carne.

La superficie agraria utile (SAU) media per azienda nel campione è pari a circa 77 ettari, tuttavia, il dato risulta differenziato per tipologia di aziende. Le aziende zootecniche con allevamento bovino da latte superiori a 100 vacche, hanno una SAU media di circa 186 ettari, mentre le aziende zootecniche con allevamento bovino da latte inferiori a 100 vacche, hanno una SAU media di circa 49 ettari. Le aziende zootecniche con allevamento bovino da carne hanno una SAU media di circa 52 ettari.

Per quanto riguarda le unità di lavoro (ULU), queste sono mediamente più elevate nelle aziende di dimensioni maggiori. Infatti, nelle aziende zootecniche con allevamento bovino da latte superiori a 100 vacche, sono state rilevate 4,50 ULU in media per azienda, di cui 3,50 ULU familiare. Nelle aziende zootecniche con allevamento bovino da latte inferiori a 100 vacche, sono state rilevate 2,50 ULU in media per azienda tutte di lavoro familiare, mentre ad un livello inferiore sono collocate le aziende zootecniche con allevamento bovino da carne, in cui sono state rilevate 1,00 ULU in media per azienda, anche in questo caso tutte di lavoro familiare.

Il patrimonio zootecnico bovino espresso in UGB è di 207,00 nelle aziende zootecniche con allevamento bovino da latte superiori a 100 vacche, mentre è di 71,67 nelle aziende zootecniche con allevamento bovino da latte inferiori a 100 vacche, e nelle aziende zootecniche con allevamento bovino da carne è di 62,50 UGB.

Tabella 17 - Il campione aziendale dati medi per azienda

Aziende zootecniche con allevamento bovino	SAU (ha)	ULU	ULU familiare	UGB	UPL
Da latte inferiori a 100 vacche	49,08	2,50	2,50	71,67	51,83
Da latte superiori a 100 vacche	186,50	4,50	3,50	207,00	150,00
Da carne	52,00	1,00	1,00	62,50	-
Totale	77,15	2,60	2,40	96,90	61,10

Fonte: elaborazioni su dati aziendali

Infine, per quanto riguarda il numero di vacche, le unità lattifere (UPL) medie per aziende queste sono 150,00 nel gruppo della aziende con oltre 100 vacche e 51,83 nel gruppo di aziende con meno di 100 vacche.

4 – Analisi dei dati economici delle aziende del campione

La produzione lorda vendibile prodotta nelle aziende incluse nel campione è composta prevalentemente da produzione di latte, e questa produzione rappresenta il 76% circa del totale, mentre la produzione di carne incide per il 11,5% circa sul complesso della PLV del campione. La produzione di latte è destinata alla trasformazione in formaggio Parmigiano Reggiano. Le produzioni vegetali incidono per il 2,5% della PLV, integralmente derivanti dalla produzione di frumento. Le altre componenti della PLV rappresentano il 10% circa e sono date da contributi comunitari, da noleggi attivi e pensioni. La PLV media per azienda è di circa 228mila Euro nel complesso del campione, ma il dato risulta differenziato per gruppo di appartenenza delle aziende. Nel gruppo delle aziende zootecniche con allevamento bovino da latte, con meno di 100 vacche per azienda, la PLV media è di circa 174mila Euro, nel gruppo delle aziende zootecniche con allevamento bovino da latte, con più di 100 vacche per azienda, la PLV media è di circa 535mila Euro, mentre nel gruppo delle aziende zootecniche con allevamento bovino da carne, la PLV media è di circa 83mila Euro. Per quanto riguarda la PLV per ettaro di SAU, questa è di 3,5mila Euro nel primo gruppo di aziende, è di 2,8mila Euro circa nel secondo gruppo di aziende ed è infine pari a 1,6mila Euro nel terzo gruppo di aziende. Relativamente alla PLV per ULU, questa è di 69mila Euro nel primo gruppo di aziende, è di 119mila Euro circa nel secondo gruppo di aziende ed è infine pari a 83mila Euro circa nel terzo gruppo di aziende.

Tabella 18 - Produzione Lorda Vendibile (€)

Aziende zootecniche con allevamento bovino	PLV (€) per		
	Azienda	SAU (ha)	ULU
Da latte inferiori a 100 vacche	173.843	3.542	69.537
Da latte superiori a 100 vacche	534.850	2.868	118.856
Da carne	83.250	1.601	83.250
Totale	227.926	2.954	87.664

Fonte: elaborazioni su dati aziendali

Per quanto riguarda la suddivisione della PLV per tipologia di produzione, si è proceduto a disaggregare i dati della PLV totale in PLV derivante da produzioni vegetali, PLV derivante da produzioni animali e PLV derivante da altre produzioni. La PLV vegetale deriva dal valore della produzione del frumento. In termini di PLV media per azienda, la PLV vegetale è presente in particolare nel secondo gruppo di aziende, con circa 11,6mila Euro di PLV per azienda, 62 Euro per ettaro di SAU e 2,6mila Euro circa per ULU. Nel primo gruppo la PLV vegetale è pari a 5mila Euro circa per azienda, 103 Euro per ettaro di SAU e 2mila Euro circa per ULU. Nel terzo gruppo la PLV vegetale è pari a 3,7mila Euro circa per azienda, 72 Euro per ettaro di SAU e 3,7mila Euro circa per ULU.

Tabella 19 – Produzione Lorda Vendibile vegetale

Aziende zootecniche con allevamento bovino	PLV Vegetale (€) per		
	Azienda	SAU (ha)	ULU
Da latte inferiori a 100 vacche	5.041	103	2.016
Da latte superiori a 100 vacche	11.600	62	2.578
Da carne	3.750	72	3.750
Totale	6.095	79	2.344

Fonte: elaborazioni su dati aziendali

La PLV media per azienda derivante da produzioni animali, nei primi due gruppi è prevalentemente dovuta alla produzione di latte per la successiva trasformazione in formaggio Parmigiano Reggiano, ed è di circa 151mila Euro nel primo gruppo di aziende, composto da aziende con meno di 100 vacche, ed è circa 504mila Euro nel secondo gruppo di aziende, composto da aziende con oltre 100 vacche. Infine, nel terzo gruppo di aziende, la PLV animale, che deriva dalla vendita dei capi bovini è di 40,5mila Euro per azienda.

La PLV animale per ettaro di SAU, pari a circa 2,6mila Euro, assume un valore decisamente più elevato nel primo e nel secondo gruppo di aziende, rispettivamente pari a 3,1mila Euro circa e 2,7mila Euro circa. La PLV animale per ettaro di SAU è pari a 779 Euro nelle aziende zootecniche con allevamento bovino da carne. La PLV animale per ULU, pari a circa 76,7mila Euro circa nel complesso del campione aziendale, è pari a 112mila nelle aziende del secondo gruppo, cioè aziende zootecniche da latte di dimensione maggiore, mentre si assesta intorno ai 60mila Euro nelle aziende del primo gruppo, cioè aziende zootecniche da latte di dimensione minore, per scendere a 40,5mila Euro nelle aziende del terzo gruppo, attive nel comparto della zootecnia da carne.

Tabella 20 – Produzione Lorda Vendibile animale

Aziende zootecniche con allevamento bovino	PLV animale (€) per				
	Azienda	SAU (ha)	ULU	UGB	UPL
Da latte inferiori a 100 vacche	151.143	3.079	60.457	2.109	2.916
Da latte superiori a 100 vacche	504.000	2.702	112.000	2.435	3.360
Da carne	40.500	779	40.500	648	-
Totale	199.586	2.587	76.764	2.060	2.546

Fonte: elaborazioni su dati aziendali

La PLV per UGB è pari a 2,4mila Euro circa nelle aziende del secondo gruppo, mentre ad un livello inferiore si assesta il primo gruppo di aziende, con 2,1mila Euro per UGB, mentre nel terzo gruppo di aziende la PLV scende a 648 Euro per UGB. Per quanto riguarda la PLV per UPL, questa è pari a 3,3mila Euro circa nelle aziende del secondo gruppo. Ad un livello leggermente inferiore si assesta il

primo gruppo di aziende, con 2,9mila Euro per UPL.

La PLV derivante da altre fonti, composta in particolare da contributi comunitari (seminativi, zootecnici e biologici), dai noleggi attivi (lavori svolti in conto terzi per altre aziende agrarie e per l'amministrazione pubblica, per sgombero neve sulle strade durante il periodo invernale), oltre ad eventuali pensioni, si concentra in particolare, in termini di PLV media per azienda, nel gruppo delle aziende zootecniche con allevamento bovino da carne, con una PLV media per azienda di circa 39mila Euro. In queste aziende assumono rilievo i contributi pubblici (legati soprattutto all'allevamento biologico dei bovini), che, con 33mila Euro circa per azienda, contribuiscono per il 40% alla PLV complessiva delle aziende considerate, ad un livello di poco inferiore alla PLV derivante da produzioni animali. Il peso della PLV da altre fonti assume un rilievo importante anche nelle aziende zootecniche del primo gruppo in cui, con 17mila Euro di PLV in media per azienda, di cui 8mila Euro per contributi comunitari (derivanti dalla coltivazione dei cereali, dai premi di macellazione dei bovini adulti e in alcuni casi dalla coltivazione biologica dei terreni), la PLV da altre fonti è pari al 10% circa della PLV complessiva. Infine, il peso della PLV da altre fonti appare meno rilevante nelle aziende del secondo gruppo. In questo gruppo di aziende, infatti, la PLV da altre fonti, pari a circa 19mila Euro per azienda, è pari al 3,6% circa della PLV complessiva. La PLV da altre fonti per ettaro di SAU è pari a 750 Euro nelle aziende da carne, e scende a 360 Euro nelle aziende da latte inferiori a 100 vacche, ed a 103 Euro nelle aziende da latte superiori a 100 vacche. La PLV da altre fonti per ULU è pari a 39mila Euro nelle aziende da carne, ed anche in questo caso scende a 7,1mila Euro circa nelle aziende da latte inferiori a 100 vacche, ed a 4,3mila Euro circa nelle aziende da latte superiori a 100 vacche.

Tabella 21 – *Produzione Lorda Vendibile da altre fonti*

Aziende zootecniche con allevamento bovino	PLV da altre fonti (€) per		
	Azienda	SAU (ha)	ULU
Da latte inferiori a 100 vacche	17.660	360	7.064
Da latte superiori a 100 vacche	19.250	103	4.278
Da carne	39.000	750	39.000
Totale	22.246	288	8.556

Fonte: elaborazioni su dati aziendali

L'importo delle spese di reintegrazione, dato dalle quote e dalle spese varie, e delle imposte, assume un livello differenziato per gruppo di aziende, passando da circa 33mila Euro per ULU nel terzo gruppo di aziende (33mila Euro per azienda e 642 Euro per ettaro di SAU), a 35mila Euro per ULU nel primo gruppo di aziende (87mila Euro per azienda e 1.769 Euro per ettaro di SAU), a oltre 71mila Euro per ULU nel secondo gruppo di aziende (320mila Euro per azienda e 1.715 Euro per ettaro di SAU). Le spese di reintegrazione e le imposte assumono un peso diverso nei diversi gruppi di aziende, ed infatti emerge come queste si assestino al 40% della PLV nelle aziende zootecniche con allevamento bovino da carne, per salire al 50% circa della PLV nelle aziende zootecniche con allevamento bovino da latte con meno di 100 vacche per azienda. Il peso delle spese di reintegrazione e delle imposte è infine pari al 60% circa della PLV nelle aziende zootecniche con allevamento bovino da latte con più di 100 vacche per azienda.

Tabella 22 – Prodotto netto

Aziende zootecniche con allevamento bovino	Prodotto Netto (€) per			Prodotto Netto % PLV
	Azienda	SAU (ha)	ULU	
Da latte inferiori a 100 vacche	87.005	1.773	34.802	50,05%
Da latte superiori a 100 vacche	215.050	1.153	47.789	40,21%
Da carne	49.845	959	45.314	59,87%
Totale	105.182	1.363	40.146	46,15%

Fonte: elaborazioni su dati aziendali

Sottratte quindi alla PLV le spese di reintegrazione e le imposte, si perviene al prodotto netto aziendale, che risulta notevolmente differenziato per gruppo di aziende. Il prodotto netto per ULU nelle aziende con allevamento bovino da latte, è pari a circa 34,8mila Euro circa nelle aziende da latte con meno di 100 vacche (87mila Euro per azienda e 1.773 Euro per ettaro di SAU). Il prodotto netto aumenta poi decisamente a oltre 47mila Euro per ULU, nelle aziende da latte con oltre 100 vacche (215mila Euro per azienda e 1.153 Euro per ettaro di SAU). Nelle aziende da carne il prodotto netto è pari a 45,3mila Euro circa per ULU (49,8mila Euro per azienda e 959 Euro per ettaro di SAU).

Conseguentemente nel terzo gruppo di aziende il prodotto netto è pari al 60% circa della PLV, mentre nel primo gruppo di aziende il prodotto netto è pari al 50% circa della PLV. Nel secondo gruppo di aziende è pari al 40% circa della PLV,

ad un livello decisamente più basso di quanto rilevato negli altri gruppi di aziende inclusi nel campione.

Tabella 23 - Reddito netto delle imprese lavoratrici

Aziende zootecniche lavoratrici con allevamento bovino	Reddito Netto (€) per	Reddito Netto % PLV
	ULU familiare	
Da latte inferiori a 100 vacche	32.659	46,97%
Da carne	47.670	57,26%
Totale	34.425	48,38%

Fonte: elaborazioni su dati aziendali

Si è provveduto al calcolo del reddito netto per ULU familiare per tipologia di conduzione e per aziende omogenee. Le aziende del campione sono in larga maggioranza imprese lavoratrici solo una, presente nel gruppo delle aziende con oltre 100 vacche, è capitalistico-lavoratrice.

Nelle aziende lavoratrici il reddito netto, per ULU familiare, è di 47.670 Euro nelle aziende da carne e di 32.659 Euro nelle aziende da latte inferiori a 100 vacche.

Solo a fini puramente indicativi, rappresentando solo un caso aziendale, nelle aziende da latte con oltre 100 vacche il reddito netto, sempre per ULU familiare, è pari a 41.920 Euro nell'impresa lavoratrice e a 49.000 mila Euro nell'impresa capitalistico-lavoratrice.

5 - Conclusioni

Il confronto dei dati dei censimenti evidenzia le profonde modificazioni che si sono avute nell'assetto dell'agricoltura parmense, in particolare negli ultimi anni. Da tali dati emerge la riduzione del numero delle aziende agrarie, la riduzione del numero degli addetti, in particolare nella montagna e nella collina parmense, unitamente a questo si è avuto un aumento della dimensione media delle aziende ed una sempre maggiore specializzazione produttiva.

I risultati economici delle aziende zootecniche con allevamento bovino, in area collinare e montana, relativamente all'anno 2002, risultano differenziati, per

indirizzo produttivo e per classe dimensionale. Nelle aziende volte alla produzione di latte destinato alla trasformazione in formaggio Parmigiano Reggiano il reddito netto riferito ad ULU familiare, risulta superiore nelle imprese che hanno la mandria con oltre 100 vacche, rispetto a quelle con mandria inferiore a 100 vacche. Questo pur in presenza di consistenti investimenti recenti, che hanno inciso in modo considerevole sulle quote di ammortamento e interessi passivi corrisposti.

Per quanto riguarda le aziende zootecniche da carne, emerge come il reddito netto, pur in linea con le aziende da latte di dimensione maggiore, sia pesantemente influenzato dai contributi pubblici, che rappresentano il 40% della PLV. Da questi dati emerge come anche in zona collinare e montana vi è la possibilità di avere redditività nell'attività zootecnica, in particolare in quella da latte, se la dimensione e l'organizzazione aziendale risultano adeguate, e garantiscono la competitività di tali imprese; di rilevanza fondamentale, agendo in un ambito di produzioni tipiche, sono le azioni di valorizzazione delle produzioni. Solo conciliando da un lato politiche di valorizzazione delle produzioni, e dall'altro la ricerca di una maggiore efficienza gestionale, sarà possibile mantenere un'attività agricola vitale in territori di collina e montagna, in particolare ove sono presenti produzioni tipiche, contenendo quindi l'abbandono delle aree meno favorite.

Bibliografia

Bonazzi G. (2004) *“Il formaggio Parmigiano-Reggiano nel sistema agroalimentare europeo”*, in *Atti della Società Italiana di Buiatria*, Volume XXXVI, Editografica, Bologna.

Bregoli A. (1987) *“Bilancio e contabilità nell'azienda agraria”*, Liviana Editrice, Padova.

Ferri G., Iotti M. (2001) *“Pianificazione e controllo nelle aziende agro-alimentari: il caseificio cooperativo”*, in *Economia Agroalimentare*, n. 3, Franco Angeli, Milano.

Salghetti A., Bonazzi G. (2001) *“Cinque anni di zootecnia biologica a confronto”*, in *Annali della Facoltà di Medicina Veterinaria*, Volume XXI, Università degli Studi di Parma.

Salghetti A., Bonazzi G. (2004) *“Analisi evolutiva delle aziende agricole parmensi attraverso le rilevazioni contabili”* in *IV° Conferenza Provinciale Agricoltura l'agroalimentare per Parma*, C.C.I.A.A. Parma

Sommario

Negli ultimi anni l'agricoltura in provincia di Parma ha mostrato profondi cambiamenti. I dati dei censimenti evidenziano la riduzione del numero delle aziende agrarie, la riduzione del numero degli addetti, in particolare nella montagna e nella collina parmense, con conseguente aumento della dimensione media delle aziende e

della specializzazione produttiva.

Per la ricerca dei risultati economici è stato analizzato un campione di 10 aziende della collina e della montagna parmense con allevamento bovino, parte con indirizzo produttivo volto alla produzione di latte destinato alla trasformazione in formaggio Parmigiano Reggiano e parte con indirizzo produttivo volto alla produzione di carne. La ricerca ha evidenziato come nelle zone collinare e montana vi sia la possibilità di ottenere redditività nell'attività zootecnica, in particolare per quella da latte, se la dimensione e l'organizzazione aziendale risultano adeguate. Per le aziende zootecniche da carne risulta elevata la dipendenza dai contributi pubblici. In un ambito di produzioni tipiche, risulta fondamentale l'azione di valorizzazione delle produzioni.

Summary – Cattle rearing in the hills and mountains of the Province of Parma: census data and economic results gathered from a sample of companies

Over the last few years, agriculture in the province of Parma has undergone sweeping changes. Census data reveal a reduction in the number of farms and farm workers, especially in the mountains and hills surrounding Parma, and a resulting increase in the average size of farm businesses and specialist productions.

With a view to obtaining economic results, a sample of 10 farm businesses located in the hills and mountains of the province of Parma was examined, part of which was dedicated to the production of milk for transformation into Parmigiano Reggiano cheese and part of which was dedicated to the production of meat. The research carried out revealed how in the hilly and mountainous areas, zootechnical activities, especially dairy farming, can be profitable, as long as the businesses are sufficiently large and well-organised. Meat producing farms depend heavily on public contributions. As regards typical productions, production enhancing initiatives are of fundamental importance.

Résumé - L'élevage bovin dans les collines et les montagnes de la province de Parme : données de recensement et résultats économiques d'un échantillon d'entreprises

L'agriculture dans la province de Parme a connu de profonds changements au cours des dernières années. Les données de recensement indiquent une baisse du nombre d'exploitations et d'ouvriers agricoles, en particulier dans les montagnes et les collines aux alentours de Parme, et par conséquent une augmentation de la taille moyenne des exploitations et de la spécialisation de la production.

Dans le cadre de la recherche des résultats économiques, un échantillon de 10 exploitations situées dans les collines et montagnes de Parme a été examiné. Une partie de celles-ci est spécialisée dans la production de lait destiné à la fabrication du fromage Parmigiano Reggiano; tandis que l'autre est spécialisée dans la production de

viande. Cette recherche a permis de prouver la rentabilité de l'activité zootechnique dans les zones de collines et de montagnes, en particulier de l'exploitation laitière, lorsque les exploitations sont suffisamment grandes et organisées. Les exploitations zootechniques spécialisées dans la production de viande dépendent fortement des contributions publiques. En ce qui concerne les productions typiques, l'action de valorisation des productions est d'une importance fondamentale.

Parole chiave

Parma Censimenti agricoltura, Parma Agricultural censuses, Parme Recensements de l'agriculture

Redditività aziende zootecniche, Profitability of zootechnical businesses, Rentabilité exploitations zootechniques

Allevamento bovino montano, Mountain cattle rearing, Élevage bovin en montagne

EVOLUZIONE DEMOGRAFICA DEL LUPO (*CANIS LUPUS*) IN ITALIA: CAUSE STORICHE DEL DECLINO E DELLA RIPRESA, NUOVE PROBLEMATICHE INDOTTE E POSSIBILI SOLUZIONI

Bocedi R.*, Bracchi P.G.°

INTRODUZIONE

Il lupo (*Canis lupus* Linnaeus, 1758) è un tipico animale oloartico che, in passato, riconosceva come areale originario l'intero continente nordamericano ed eurasiatico. Questa distribuzione si è mantenuta relativamente consistente fino alla metà del XIX secolo - inizio del XX secolo quando, a causa di fenomeni di persecuzione diretta ed indiretta, è iniziato il crollo vertiginoso della specie che, nella seconda metà degli anni '90, risultava presente in poche regioni isolate fra loro e con popolazioni estremamente frammentate e numericamente ridotte. In altri territori risultava invece del tutto estinto.

In Italia, le prime politiche di conservazione della specie prendono il via nei primi anni '70 quando la specie tocca i minimi storici, stimata in circa 100 esemplari. Da quegli anni grazie a leggi speciali di tutela, a mutamenti demografici e culturali della popolazione, ad iniziative di conservazione e sensibilizzazione ad opera di organizzazioni protezionistiche e ricercatori, la situazione inizia gradualmente a migliorare. Ai giorni nostri la popolazione di lupi in Italia si stima sui 500-600 animali (anche numeri maggiori secondo alcuni ricercatori) ed è in continuo aumento.

Questa situazione se da un lato entusiasma gli studiosi, dall'altro ha causato l'insorgenza di nuovi conflitti con l'uomo, soprattutto in territori nei quali l'assenza del carnivoro da quasi un secolo ha fatto sì che si perdesse la memoria della convivenza col predatore.

Attualmente vi sono diverse misure proposte per l'attenuazione di questi conflitti, ma il futuro della specie risulta ancora incerto.

SISTEMATICA

Il lupo appartiene all'ordine dei Carnivori (*Carnivora*), alla famiglia dei Canidi (*Canidae*) ed alla specie *lupus* (Linnaeus, 1758). Esistono inoltre diverse

* Medico Veterinario : E-mail : rob_lil@libero.it

° Dipartimento di Produzioni Animali, Biotecnologie Veterinarie, Qualità e Sicurezza degli Alimenti, Università degli Studi di Parma

sottospecie le quali, inizialmente, furono distinte in base a caratteristiche morfologiche ed alla distribuzione geografica. Vennero così descritte più di 40 sottospecie di lupo, delle quali più di 20 solo in Nordamerica. Sono però probabilmente troppe per essere realmente significative: frequentemente anche popolazioni in apparenza geograficamente isolate e differenti per qualche carattere esterno ben definito sono poi risultate essere in connessione con altre popolazioni. Inoltre il *Canis lupus* è una specie così variabile per caratteri esterni, come colore e dimensioni che è difficile separarlo in sottospecie sulla base di questa variabilità. Ultimamente la tendenza è stata perciò di apportare un numero minore di distinzioni tra le sottospecie e di enfatizzare maggiormente altri caratteri distintivi che non siano il colore e la taglia, quali le tecniche venatorie, la dimensione dei branchi, l'areale, la dieta. A ciò si devono aggiungere le ultimissime tecniche di indagine genetica.

Perciò attualmente si ritengono valide solo 4 o 5 sottospecie: *Canis lupus lupus* per tutta l'Eurasia centrale e settentrionale, *Canis lupus arabs* per la forma chiara e piccola dei deserti arabi, *Canis lupus pallipes* per le forme dell'Asia meridionale e del Medio Oriente, più un paio di sottospecie per le forme del Nordamerica che oggi sono spesso distinte in lupo della tundra e lupo della foresta (o grigio) in base a dove vivono (Boitani, 1986; Lopez, 1999). Alcuni autori riconoscono anche la sottospecie *Canis lupus laniger* per il lupo cinese (Lopez, 1999).

Caso particolare risulta essere il lupo rosso (*Canis rufus*): nonostante prove storiche dell'esistenza di questi lupi (nel Texas sud-orientale e nella Louisiana), accurate ricerche genetiche hanno messo in dubbio l'esistenza stessa della specie. Nel DNA del lupo rosso sono infatti stati trovati geni del lupo grigio e del coyote: questo ha fatto sospettare che la specie stessa sia semplicemente un ibrido fra questi due predatori (Ferrari, 1997).

Per quanto riguarda il lupo presente in Italia, ancora oggi vi sono accese discussioni circa la sua classificazione. In passato esso era stato ascritto alla sottospecie *italicus* (Altobello, 1921) sulla base di scarsi reperti. Recenti indagini genetiche avrebbero però smentito la validità di tale sottospecie. Occorre però considerare che il lupo italiano presenta un ridotto differenziamento genetico rispetto ai lupi dell'Europa centro-orientale, dovuto al recente isolamento geografico e genetico della residua popolazione italiana (mentre fino al XIX secolo essa risultava in continuità con le altre popolazioni europee). Perciò, ancora oggi, alcuni studiosi ritengono valida l'esistenza della sottospecie *italicus* (Boscagli, 2002).



DISTRIBUZIONE STORICA

Come già ricordato, l'areale originario del lupo comprendeva l'intero continente nordamericano ed eurasiatico. Ad eccezione dell'Islanda, delle foreste tropicali dell'Asia sud-orientale e dei luoghi più desertici, i lupi si sono adattati praticamente ad ogni habitat disponibile.

Della distribuzione originaria è rimasto oggi ben poco. In Europa, così come in America i governanti misero in atto vere e proprie politiche di sterminio del lupo. A ciò andava aggiunto la scomparsa del suo habitat naturale, le foreste, per far posto ai pascoli per il bestiame, con il conseguente declino delle sue prede naturali, anche ad opera dei cacciatori.

In Europa il lupo scompare dalle Isole Britanniche, da gran parte della Scandinavia e dall'Europa centrale verso la fine del XIX secolo, resistendo solo in piccole popolazioni della Repubblica Ceca, Slovacchia, Polonia, Romania, Bulgaria, ex-Jugoslavia, Albania e Russia.

Situazioni in parte diverse si sono venute a creare nei tre paesi mediterranei: Grecia, penisola Iberica ed Italia, nei quali il lupo non scopare mai completamente.

In Italia il lupo era ampiamente diffuso sull'intera penisola fino alla metà del secolo scorso, venne poi sterminato sulle Alpi negli anni '20 ed in Sicilia negli anni

'40, mentre in Sardegna non è mai giunto nella sua forma attuale.

La distribuzione della specie che appariva continua lungo la catena appenninica fino alla metà degli anni '50, subì un'ulteriore drastica riduzione nel ventennio che seguì il secondo conflitto mondiale. Alla fine degli anni '50 diviene rarissimo in tutto l'Appennino tosco-emiliano, è però nel decennio successivo che la specie subisce l'attacco più grave, raggiungendo il suo minimo storico nei primi anni '70.

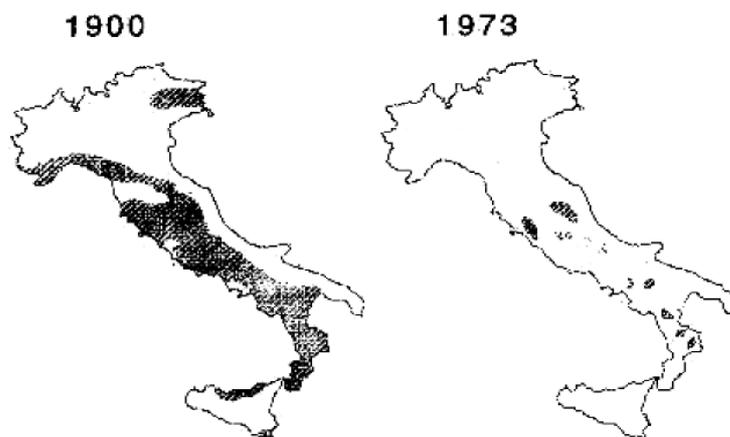


Fig. 1 - Areale di distribuzione del lupo, 1900-1973 (Randi et al., 2000)

CAUSE DEL DECLINO

Dirette:

- 1) Caccia diretta da parte dell'uomo;
- 2) Uso del veleno;
- 3) Incidenti stradali.

Indirette:

- 1) Randagismo canino (cani vaganti, randagi, inselvaticiti): in Italia ogni 100 km² si trovava circa 1 lupo, mentre per ogni km² erano presenti non meno di 150-300 cani vaganti, dei quali 25-80 inselvaticiti (Boitani, 1986). La competizione avveniva principalmente su tre fronti: l'alimentazione, la riproduzione e lo spazio.

L'alimentazione in quel periodo era basata prevalentemente sulle discariche, alle quali i cani riuscivano ad avere più facile accesso. Lo stesso dicasi per quanto riguarda la caccia agli animali domestici. Per quanto riguarda la riproduzione, cane e lupo sono specie interfeconde ma, in realtà, il lupo in genere considera il cane come preda. Però con il rarefarsi delle popolazioni lupine ed il venir meno del comportamento di branco del lupo, femmine di lupo isolate potevano arrivare ad accettare cani come partner. Infine i territori adatti per i lupi andavano sempre più rarefacendosi, questo unito alla competizione con branchi di cani inselvaticiti, rendeva più difficile a giovani individui in fase di dispersione conquistare un territorio idoneo alla costituzione di un nuovo branco.

- 2) Disturbo e distruzione degli habitat: causato dall'abbattimento dei boschi o dal loro sfoltimento, dalla massiccia presenza di turisti ed altre attività antropiche in alcune aree montane.
- 3) Scomparsa delle prede naturali: a causa della distruzione degli habitat per far posto ai pascoli per le greggi ed a causa della caccia diretta da parte dell'uomo.
- 4) Conflitto con le attività zootecniche: in assenza di prede naturali selvatiche, aumentava la pressione del lupo sulle greggi. Attività questa, svolta anche dai cani inselvaticiti, a cui non si dava però la giusta importanza.
- 5) Ecologia alimentare del lupo: in quel periodo basata principalmente sulle discariche di rifiuti.
- 6) Ostilità tradizionale delle popolazioni montane.
- 7) Rabbia silvestre: ancora piuttosto diffusa sul territorio in quel periodo.
- 8) Esiguità numerica ed isolamento: della residua popolazione di lupo italiana.

La causa principale fu comunque l'impiego massiccio di bocconi avvelenati che allora era legale ed anzi, incoraggiato per la lotta ai "nocivi".

DISTRIBUZIONE ATTUALE

Dagli anni '70 ad oggi si è assistito alla graduale espansione dell'area di presenza stabile del lupo. Il 1972 fu l'anno in cui Luigi Boitani ed Erik Zimen furono incaricati di svolgere il primo censimento del lupo italiano condotto con una tecnica oggettiva e scientifica. Il metodo adottato fu quello indiretto (tramite interviste ed altro), confrontato poi con una riprova sperimentale sul campo in una zona campione (Boitani, 1986). Alla fine del censimento i ricercatori stimarono la presenza di circa 100 lupi su tutto il territorio nazionale con un areale che sembrava estendersi dai monti Sibillini (presunto limite settentrionale dell'areale) nelle Marche fino alla Sila in Calabria (presunto limite meridionale). In questo territorio la presenza del lupo non era però continua ma raggruppata in 4 aree principali, ottenute accorpando zone vicine tra loro:

1. Una grande area tra Abruzzo, Molise, Lazio orientale, Umbria e Marche;

2. Una tra Lazio settentrionale e Toscana meridionale;
3. Una tra Campania, Basilicata e Calabria settentrionale;
4. Sila. (Boitani, 1986).

In seguito a ricerche condotte successivamente, alcuni ricercatori ritennero però che il lupo non fosse mai scomparso del tutto nemmeno dal tratto dell'Appennino tosco-romagnolo corrispondente grossomodo all'attuale Parco delle Foreste Casentinesi (Cavalloni et al., Mariani et al., 1988).

Un secondo censimento condotto dagli stessi ricercatori nei primi anni '80 stimò un numero totale variabile tra 220-240 lupi, con una progressiva espansione dell'areale.

Questa tendenza espansionistica della specie venne ulteriormente confermata dalle sempre più numerose ricerche condotte da numerosi gruppi di studio a partire da quegli anni.

È degli anni '90 la stima di 400 lupi, con la ricomparsa della specie da aree dalle quali era assente da quasi un secolo (Alpi Occidentali). Risulta inoltre presente in misura più o meno costante su tutto l'Appennino, consolidando inoltre la sua presenza, incrementandosi, nelle aree cosiddette "storiche".

Oggi si stima la presenza di 500-600 lupi, che risultano presenti sull'intera catena appenninica, dall'Appennino ligure all'Aspromonte. Importanti ramificazioni si hanno inoltre nel Lazio settentrionale e nella Toscana centro-meridionale. Il lupo è presente stabilmente anche sulle Alpi occidentali (sia sul versante italiano che su quello francese). Attualmente non vi sono invece segnalazioni della presenza di lupi sulle Alpi orientali ma, vista la prossimità della piccola popolazione di lupi slovena, non è da escludere che in un prossimo futuro si abbiano segnalazioni anche da quel versante.



Fig. 2 - Areale di distribuzione attuale (Spagnesi e De Marinis, 2002)

CAUSE DELLA RIPRESA

È innanzitutto necessario ricordare che in Italia (così come in Europa), non sono mai stati effettuati interventi di reintroduzione, ripopolamento od introduzione di lupi in ambiente selvatico, così come è invece avvenuto, in tempi recenti in Nordamerica. Il recente processo di espansione della specie in Italia è il risultato di una serie di fattori di natura storica, ecologica, ambientale e legale.

• **Fattori storico-sociali:** sono legati al progressivo inurbamento delle popolazioni montane a partire dal secondo dopoguerra, con il conseguente abbandono di colline e montagne e la successiva e conseguente riespansione di foreste ed incolti. Ciò ha fatto sì che vi fossero maggiori estensioni di territorio adatti alla crescita (e reintroduzione) dei principali ungulati selvatici (cinghiale, capriolo, cervo, daino e muflone). Altro fattore importante è stato sicuramente la significativa riduzione del numero dei cacciatori negli ultimi decenni.

• **Fattori ecologici:** sono legati alla notevole plasticità biologica della specie, in grado di sopravvivere anche in territori relativamente antropizzati.

Tre sono gli aspetti principali da considerare: 1) un'ecologia alimentare molto opportunistica che gli consente di cibarsi di varie categorie alimentari, in base alla disponibilità ed all'accessibilità locale delle diverse risorse; 2) il fenomeno della dispersione che consente a giovani lupi di distaccarsi dal branco di origine e di andare alla ricerca di un territorio proprio e di un conspecifico di sesso opposto col quale riprodursi. Questo fenomeno diminuisce i rischi della consanguineità, limita il rischio di sovrautilizzo delle risorse e promuove inoltre l'espansione dell'areale della specie. Consente anche che, in caso di estinzione di una sub-popolazione locale, vi possa essere la sopravvivenza di alcuni individui che si erano precedentemente allontanati ed una possibile ricolonizzazione di quel territorio resosi nuovamente disponibile. 3) una certa capacità compensatoria la mortalità entro certi limiti: se esiste una persecuzione locale di lupi e si verifica un numero di uccisioni che non supera il 40% della popolazione locale, il branco risponderà l'anno seguente con un numero maggiore di nascite.

• **Fattori ambientali:** grazie alla creazione di nuovi Parchi ed Aree Protette (soprattutto a partire dal 1990), che hanno garantito zone "rifugio" per il lupo.

• **Fattori legali:** sono dovuti alla promulgazione di leggi di tutela della specie.

Leggi nazionali:

- A. Decreto Ministeriale (Natali) del luglio 1971, tolse il lupo dall'elenco degli animali "nocivi", ne proibì la caccia e vietò l'uso dei bocconi avvelenati;
- B. Decreto Ministeriale (Marcora) del 22/11/1976, decreto definitivo per la protezione del lupo con il quale la specie diviene integralmente protetta;

- C. Legge 157/92 “Norme per la protezione della fauna omeoterma e prelievo venatorio”, recepimento della direttiva CEE 79/409 Uccelli e della Convenzione di Berna. Legge quadro di disciplina di tutta la materia della caccia e tutela della fauna selvatica.
- D. DPR 357/97 (attuazione della direttiva CEE 92/43 Habitat)
- E. Ogni Legge Regionale sulla caccia lo protegge poi integralmente, mentre altre norme (diverse da Regione a Regione e non in tutte) stabiliscono il rimborso dei danni causati al patrimonio zootecnico.

PROSPETTIVE FUTURE

Attualmente in Italia la popolazione di lupi non appare ancora al di sopra di una soglia di sicurezza che ne garantisca la sopravvivenza sul lungo periodo.

L'attuale popolazione alpina di lupi presenta una distribuzione che comprende Italia e Francia, mentre presenze occasionali sono periodicamente registrate in Svizzera (KORA, 2001). È prevedibile che in futuro l'espansione della specie porti alla formazione di un'unica popolazione di lupi condivisa anche da Svizzera, Austria e Slovenia. Perciò le strategie di conservazione nella regione alpina dovranno riguardare la complessiva popolazione di lupo ed andrebbe anche ricercato un approccio il più possibile coerente da parte dei diversi paesi interessati. Attualmente il lupo è totalmente protetto in Italia, mentre sia la Francia sia la Svizzera si sono dotate di piani di gestione che prevedono la possibilità di abbattimento di individui particolarmente problematici.

Anche nel resto d'Italia è probabile che il lupo potrà ancora incrementare la consistenza delle popolazioni ed estendere l'areale di presenza nei prossimi decenni (Genovesi, 2002).

Fattori Primari limitanti la sopravvivenza del lupo sul lungo periodo:

- ***Braconaggio:*** ancora oggi risulta essere la principale causa di morte del lupo in Italia. È condotto principalmente mediante l'uso di bocconi avvelenati, lacci ed armi da fuoco (Genovesi, 2002).
Nonostante ciò, a fronte di numerosi lupi uccisi ogni anno, non si è mai verificato un solo caso di incriminazione di un bracconiere. Se da un lato vi può essere una oggettiva difficoltà nello scoprire i responsabili di questi episodi, dall'altro vi è anche, probabilmente, una insufficiente volontà a farlo.
Il braconaggio si origina principalmente sia dai conflitti con l'attività venatoria che dai conflitti con l'allevamento.
- ***Conflitto con la zootecnica:*** rappresenta appunto un frequente fattore scatenante la persecuzione verso il predatore. Nonostante la predazione del lupo possa determinare anche un costo notevole per il singolo allevatore, la perdita complessiva in termini assoluti è molto limitata e rappresenta una percentuale

minore delle cause di morte del bestiame (Ciucci e Boitani, 1998). Percentuale che, in larga parte, è dovuta a fenomeni di predazione operati da cani. Oltre alla predazione diretta gli attacchi del lupo possono anche determinare danni indiretti dovuti a fughe di bestiame, aborti, perdita di latte.

Tutti questi problemi sono ampliati dal fatto che la specie sta venendo a contatto con categorie di persone che non sono preparate per affrontare la questione. In molte aree di recente espansione è venuta meno anche la memoria storica della presenza del lupo.

- **Conflitto con il mondo venatorio:** scatenata essenzialmente dalla predazione del lupo sugli ungulati selvatici. In realtà l'impatto del lupo sugli ungulati è in generale molto meno rilevante di quanto ritenga una larga parte del mondo venatorio, però i cacciatori mantengono un'opinione negativa sul predatore che è visto come un competitore (Genovesi, 2002).
- **Randagismo canino:** fenomeno praticamente endemico ed apparentemente insolubile in molte regioni italiane. I problemi che questo fenomeno causa sono molteplici: innanzitutto il rischio di inquinamento genetico: anche se raramente, sono stati segnalati casi di ibridi cane-lupo (Boitani, 1986, Randi e Lucchini, 2002). Poi la competizione per i territori potenzialmente idonei per il lupo, questo soprattutto quando sono presenti cani inselvatichiti, che tendono ad assumere comportamenti ed utilizzo dei territori più idonei ai lupi. Stessa competizione si ha poi per le prede, ed i problemi maggiori insorgono quando queste sono costituite dal bestiame domestico con la conseguenza che molti degli attacchi vengono erroneamente attribuiti ai lupi. Infine, i cani vaganti possono anche fungere da serbatoio di diversi agenti patogeni, potenzialmente in grado di determinare effetti negativi rilevanti sulle popolazioni di lupo (Ambroggi et al., 2002).
- **Mancanza di coordinamento tra gli interventi di conservazione:** è purtroppo da rilevare che i vari progetti di conservazione hanno spesso una valenza solo locale e che frequentemente, per mancanza di fondi od altro, sono in alcuni casi solo teorici o comunque di durata limitata. A ciò va aggiunto il fatto che anche fra gli stessi ricercatori che si occupano attivamente di conservazione del lupo, spesso non c'è comunanza di opinioni e di intenti su ciò che sarebbe più opportuno fare per favorire la sopravvivenza del lupo sul lungo periodo.

Fattori Secondari limitanti la sopravvivenza del lupo sul lungo periodo:

- **Qualità dell'habitat:** non dipendente unicamente da parametri ambientali (es. copertura forestale, fonti alimentari, ecc.), ma anche dalla presenza antropica.
- **Esiguità numerica delle popolazioni:** fatto che la sottopone sempre a rischio di estinzioni locali, rendendo anche difficile l'incontro di conspecifici di sesso

opposto per formare nuovi branchi.

- **Distribuzione e frammentazione dell'areale:** contribuisce a rendere più difficoltose le possibilità teoriche di flusso genico tra lupi delle aree più distanti, anche se allo stato attuale non risultano evidenti fenomeni di perdita della variabilità genetica (Genovesi, 2002).
- **Quadro normativo attuale:** se da un lato prevede leggi di protezione a valenza nazionale, dall'altro demanda la gestione alle singole regioni, le quali non coordinano i propri interventi con il risultato di una notevole diversità di azione tra aree diverse nell'applicazione sia delle leggi di protezione, sia delle norme relative al risarcimento dei danni (Boitani e Ciucci, 2001).

POSSIBILI SOLUZIONI

- A. Rigorosa applicazione della normativa vigente in materia di bracconaggio, con un più capillare controllo del territorio da parte degli organi preposti.
- B. Attenuazione dei conflitti con la zootecnica mediante: 1) l'incentivazione all'adozione di misure di prevenzione dei danni che possono essere: impiego di cani da pastore (maremmano-abruzzese) addestrati anti-lupo; impedire che il bestiame venga lasciato sui pascoli incustodito, promuovere l'uso di recinzioni elettrificate ed il ricovero notturno degli animali; cercare di far sì che i parti avvengano in stalla. 2) Risarcimento dei danni: i danni al bestiame dovrebbero sempre essere risarciti; è inoltre importante che il rimborso rispecchi l'effettivo valore di mercato degli animali e gli eventuali danni indiretti provocati e che venga erogato in tempi ragionevoli. Dove questo avviene, è dimostrato che gli episodi di uccisioni di lupi sono diminuiti.
- C. Attenuazione dei conflitti con il mondo venatorio: necessiterebbe una vera e propria rivoluzione culturale di questo mondo per quanto concerne il rapporto con i grandi predatori, ma i segnali in tal senso sono ancora molto scarsi.
- D. Applicazione della legge 281/91 in materia di animali d'affezione e prevenzione del randagismo che prevede, tra le altre cose, l'obbligo del microchip per tutti i cani e la costruzione di ricoveri e canili per i randagi. In realtà per quanto riguarda ad esempio il microchip, solo in poche regioni esso è già obbligatorio da alcuni anni.
- E. Tutela dell'habitat, e non solo all'interno dei Parchi. Fondamentale risulta anche essere la tutela dei corridoi ecologici, che rappresentano zone di connessione tra i diversi nuclei che compongono la popolazione italiana di lupi.
- F. Strategia di tutela della specie gestita a livello nazionale, con la collaborazione di

tutte le parti interessate.

CONCLUSIONI

Si ritiene perciò che la convivenza con il lupo sia possibile se si accetta l'idea che i grandi predatori siano una componente fondamentale di un ambiente integro ed equilibrato e se si provvederà ad informare e tutelare gli interessi delle popolazioni locali, soprattutto montane, che con il lupo avranno maggiori occasioni di incontro/scontro. Sarebbe opportuno coinvolgere le stesse nei progetti di gestione della specie, in modo che questi non vengano avvertiti come imposti dall'alto.

È altresì necessaria la rigorosa applicazione di tutte le normative concernenti la tutela del lupo, così come la tutela e la valorizzazione delle aree protette.

Infine è auspicabile anche un migliore coordinamento tra chi, a livello nazionale ed internazionale, si occupa di preservare questa specie.

Parole chiave: lupo, conservazione, legislazione.

Key words : wolf, conservation, legislation.

RIASSUNTO

Negli ultimi due secoli il lupo ha subito una drastica riduzione numerica in quasi tutto il suo areale originario resistendo soltanto, con popolazioni numericamente ridotte, in poche aree spesso isolate tra loro.

In Italia la specie risulta essere ancora relativamente consistente fino al secondo dopoguerra, quando inizia la drastica riduzione numerica, soprattutto a causa della persecuzione diretta ad opera dell'uomo, mediante armi da fuoco ed esche avvelenate. Altri fattori sono la scomparsa dell'habitat e delle prede naturali, il randagismo canino, il conflitto con la zootecnia, la rabbia silvestre, ecc. Nei primi anni '70 si tocca il minimo storico, stimato sui 100 esemplari. Da quella data in poi le cose cominciano a migliorare, grazie a speciali leggi di tutela varate in quegli anni, al progressivo inurbamento delle popolazioni montane, alla maggiore disponibilità di prede e di habitat ed alla notevole plasticità biologica della specie che la rende in grado di sopravvivere anche in ambienti relativamente antropizzati.

Oggi si stima, in Italia, la presenza di 500-600 lupi. Questo, unito al fatto che la specie è ricomparsa in aree dalle quali era assente da quasi un secolo, ha determinato l'insorgere di nuovi/vecchi problemi, ai quali occorrerà trovare una soluzione se si vuole garantire la sopravvivenza della specie sul lungo periodo.

SUMMARY

In the past two centuries, the number of wolves drastically decreased in almost all its original areas. The species still exists in small number only in a few

areas, which are often far from each other.

The number of wolves in Italy was relatively large until the 2nd post world war; at that point a drastic numerical reduction began, caused especially by the use of fire-arms and poison baits. Other factors were the disappearance of the natural habitat and preys, the presence of stray dogs, a conflict with zootechnic activities, the rabies, etc. In the early 70s we experienced the lowest number ever reached: around 100 specimens. From that moment things started to get better, thanks to special protective laws, to the fact that more and more mountaineers moved to the city, to the higher availability of preys and to the great biological adaptability of this species, which allows wolves to survive even in environment relatively modified by man.

At present the presence of wolves in Italy has been estimated around 500-600 specimen. This, together with the fact that they have reappeared in certain areas after almost a century, has determined the raising of old/new problems, which have to be solved in order to guarantee the surviving of the species on the long run.

BIBLIOGRAFIA

1. Ambrogi C., Cardini G., Papini R., 2002. Aspetti sanitari della conservazione del lupo in Toscana. Atti del convegno "Il Lupo e i Parchi", (S. Sofia).
2. Apollonio M, Mattioli L., Scandura M., Mauri L., Gazzola A., Avanzinelli E., 2004. Wolves in the Casentinesi Forests: insight for wolf conservation in Italy from a protected area with a rich wild prey community. *Biological Conservation*, vol.120, Issue 2, pages 253-264.
3. Boitani L., 1986. Dalla parte del lupo. Editoriale Giorgio Mondadori.
4. Boitani L., Ciucci P., 2001. Piano d'azione per la conservazione del lupo (*Canis lupus*) nelle Alpi. WWF - Progetto Grandi Carnivori.
5. Boscagli G., Baldassarri F., Tribuzi S., 2002. Stima del popolamento di lupo (*Canis lupus* L.) nel Parco Nazionale delle Foreste Casentinesi attraverso un programma di formazione del coordinamento territoriale per l'ambiente del corpo forestale dello Stato. Atti del convegno "Il Lupo e i Parchi", (S.Sofia).
6. Ciucci P., Boitani L., 1998. Il lupo. Elementi di biologia, gestione e ricerca. Istituto Nazionale per la Fauna Selvatica "Alessandro Ghigi", Documenti Tecnici, 23.
7. Ferrari M., 1997. Il lupo ha ritrovato l'America. *Oasis* n°114, pp. 90-101.
8. Genovesi P.(a cura di), 2002. Piano d'azione nazionale per la conservazione del lupo (*Canis lupus*). *Quad. Cons. Natura*, 13, Min. Ambiente – Ist. Naz. Fauna Selvatica.
9. KORA, 2001. Documentation loup. Préparée à la demande de l'Office Fédéral de l'environnement, des fore et du paysage (OFEFP), www.Kora.unibe.ch.
10. Lopez B., 1999. Lupi. Piemme.

11. Lucchini V., Galov A., Randi E., 2004. Evidence of genetic distinction and long-term population decline in wolves (*Canis lupus*) in the Italian Appennines. *Molecular Ecology*, vol.13, pages 523-536.
12. Mariani L., Boscagli G., Inverni A., Tribuzi S., 1988. Evoluzione del fenomeno di ricolonizzazione del lupo lungo l'Appennino Umbro – Marchigiano settentrionale e Romagnolo. Atti del convegno naz. del G.L.I. (Civitella Alfedena).
13. Randi E., Lucchini V., 2002. Analisi dell'ibridazione e dell'introgresione di geni di cane in popolazioni di lupo. Atti del convegno "Il Lupo e i Parchi" (S. Sofia).
14. www.regione.emilia-romagna.it, Lupo (*Canis lupus*).

IL TERMOMETRO, VI ASSICURO, È MEGLIO METTERLO IN BOCCA!

Enrico Bignetti*

INTRODUZIONE

E' comparsa una rassegna nel 2003 degna di nota perchè ha fatto un po' di ordine e riporta una visione unitaria di alcuni recettori cellulari delle vie della sensibilità periferica che sono stati spesso erroneamente scambiati per recettori chimici, meccanici, del dolore o di altro e che, invece, dall'analisi e dall'isolamento dei geni corrispondenti, dalla loro clonazione in cellule ospite e da studi funzionali in sistemi di espressione eterologa, si è potuti attribuire ad una famiglia di recettori definiti TRP (da: "Transient receptor potential") deputati al controllo della termoccezione e della termoregolazione (Jordt et al., 2003).

Nel fascio di nervi afferenti delle corna dorsali del midollo spinale e del ganglio Trigemino vi sono vie primarie della termosensibilità che inviano le percezioni periferiche del caldo e del freddo sia ai gangli delle corna dorsali dove sono integrati archi riflessi appropriati, che ai centri superiori dove innescano risposte comportamentali più complesse (Julis and Basbaum, 2001).

L'intervallo di sensibilità della singola cellula recettrice va dal caldo della fiamma viva al freddo di un vento gelido. Nell'intervallo tra queste temperature estreme, i centri della termorecezione e della termoregolazione ricevono inputs vari e sommano spazialmente e temporalmente le informazioni dalla periferia, mediando la risposta su più afferenze periferiche, cosicchè, in sede centrale, nell'elaborare una risposta comportamentale e neuro-endocrina finale si tiene conto, innanzitutto, di tutti gli inputs provenienti dai recettori periferici variamente distribuiti sul corpo e anche diversamente esposti alla fonte di calore. Nel caso invece si tratti di stimoli estremamente forti e nocivi, con un semplice arco riflesso, si elaborano risposte di difesa, immediate e compulsive, attraverso i circuiti riflessi locali; questo affinché l'arto o la porzione di corpo a rischio possa essere retratto immediatamente dalla fonte nociva.

Misure psicofisiche hanno dimostrato che temperature che superano i 43°C vengono generalmente percepite come nocive (da ricordare che la temperatura alla quale precipitano le proteine è molto vicina), così come le temperature attorno ai 15°C sono percepite come la soglia inferiore (Nagy and Rang, 1999; Reid and Flonta, 2001).

* Dipartimento di Fisica, Viale delle Scienze 7a, Campus, Università di Parma, 43100 Parma

A complicare la visione complessiva del meccanismo d'azione della termocezione e termoregolazione, va detto che, oltre alla sommazione spaziale e temporale sopra citata e alle due temperature critiche, esistono anche sub-popolazioni di recettori primari che vengono attivati dall'esposizione a temperature intermedie tra le due estreme; cosicchè, sembra che il codice elaborato dai centri della termocezione sia di tipo combinatorio, anche in base alla tipologia dei gruppi di recettori corrispondentemente attivati dalla stimolazione esterna.

Come si diceva poc' anzi, in base al numero di recettori stimolati e alla loro distribuzione topografica relativamente alla fonte dello stimolo, il nostro organismo è in allarme quando riconosce il pericolo di vita, o prova soltanto un senso di disagio se è esposto ad un gradiente termico intermedio. Solo da poco la ricerca è entrata nella logica molecolare della termocezione; in particolare, di recente si è arrivati all'identificazione di alcuni canali cationici di membrana che sono coinvolti nel processo; con questa scoperta si è aperta la strada allo studio biochimico e biofisico e non più soltanto psicofisico del sistema.

LE SONDE MOLECOLARI DELLA TERMOCEZIONE

La Capsicina del peperoncino piccante ed il Mentolo della menta, ingredienti tipicamente usati come condimenti dei nostri cibi sono molecole naturali (Fig.1) che mimano, rispettivamente, la sensazione del caldo e del freddo. Difatti, il loro studio ha sorprendentemente aperto la strada alla comprensione del meccanismo molecolare della termocezione.

a. Il termometro del caldo

Fino a poco tempo fa, la molecola della Capsicina era stata considerata uno stimolo dolorifico tipico delle vie nocicettive, in particolare dei canali cationici non selettivi ma permeabili sia al Potassio che al Sodio dei neurocettori del dolore. L'evidenza suscita un certo interesse quando, parallelamente, si scopre che molte fibre nervose sensibili alla Capsicina (comprendenti sotto-popolazioni di neuroni mielinici di tipo C e non-mielinici A δ) sono anche attivate da stimoli termici nocivi con soglie attorno ai 43°C (Nagy and Rang, 1999). Una volta clonato e studiato funzionalmente il recettore per la Capsicina (TRPV1, anche noto come: Vanilloid Receptor 1), si è individuato, per la prima volta dal punto di vista molecolare, il responsabile per la sensibilità nei confronti del caldo e si è finalmente compresa la possibile correlazione tra la stimolazione dolorifica e la soglia termica psicofisica del caldo. Quando il cDNA del TRPV1 viene espresso in sistemi eterologhi il prodotto dell'espressione viene attivato sia dalla temperatura di 43°C che dalla Capsicina (Tominaga et al., 1998; Welch et al., 2000). Inoltre, studi di "knockout" confermano la scoperta mostrando che neuroni sensoriali delle corna dorsali del midollo spinale in topi mancanti di TRPV1, danno risposte moderate alle ben note soglie termiche di attivazione (Caterina et al., 2000; Davis et al., 2000).

Un altro fenotipo isolato e sempre mancante di TRPV1, mostra anche

una mancanza importante di sensibilità alla sensazione dolorosa (iperalgia) che normalmente viene causata da un insulto fisico (per es. da una soluzione di continuo) alle terminazioni periferiche. Notoriamente, la iperalgia è stimolata da specifici mediatori chimici liberati localmente dall'inflammazione; in alcuni esperimenti in-vitro si dimostra che alcuni tra quei mediatori hanno effetto diretto sul canale ionico TRPV1 mentre altri hanno effetto indiretto di tipo allosterico, dovuto ad un aumento extracellulare dei protoni, conseguenti all'aumento dell'acidità da danno tissutale. I neuroni sensoriali di topi transgenici mancanti di TRPV1, non rispondono ad una acidità tissutale a causa della mancanza di un residuo di glutammato essenziale per mediare questo tipo di risposte alla stimolazione dei protoni. Guarda caso, il principale mediatore chimico dell'insulto tissutale che si produce localmente e fisiologicamente, è l'Anandamide, un secondo messaggero derivato dai lipidi delle membrane, che sorprendentemente è un analogo strutturale della Capsicina. Altre evidenze infine dimostrano che la Capsicina e i leganti putativi (endovanilloidi) del recettore TRPV1 si legano al recettore dalla faccia interna citoplasmatica dello stesso, attraverso una regione idrofobica dei domini 2,3 e 4 della proteina.

Altri mediatori dell'iperalgia come le Bradichinine ed il "fattore di crescita del nervo" (NGF), agiscono attivando una Fosfolipasi C che a sua volta in una cascata enzimatica favorisce la mobilitazione del fosfoinositol-4,5-difosfato e quindi delle scorte di Calcio con la conseguente attivazione della Proteina Chinasi C; infine, molto probabilmente, la Chinasi C fosforila il TRPV1 sensibilizzandolo (Premkumar and Ahern, 2000; Vellani et al., 2001). La sensibilizzazione del recettore comporta una vera e propria modulazione della sua sensibilità cioè un abbassamento della soglia termica di attivazione, effetto che è compatibile con l'evidenza di una marcata ipersensibilità alla temperatura del recettore periferico in presenza di molecole come la Capsicina (Hot pepper)

La famiglia dei canali ionici sensibili alla temperatura è molto ampia e ha omologhi ovunque, in cellule di vertebrato ed invertebrato. Il nostro sistema somatosensoriale può tranquillamente fare affidamento proprio sull'esistenza di numerosi geni omologhi del TRPV1 che hanno spettri di sensibilità termica diversificata e variamente dislocati per il controllo di vari distretti dell'organismo. I canali correlati hanno nomi come: TRPV2, TRPV3 ecc. (Montell et al., 2002); i geni corrispondenti sono stati clonati e le loro soglie di sensibilità sono state misurate in sistemi eterologhi di espressione. Fibre di tipo I A δ che, ad esempio, mediano segnali nocivi a temperature superiori ai 52°C, riportano normalmente le informazioni trasdotte da canali di tipo TRPV2. Un altro esempio è relativo al canale di tipo TRPV4 che, un tempo, si riteneva osmocettore in vari distretti come rene, cervello, orecchio interno ecc., mentre, di recente, è stato dimostrato il suo coinvolgimento nella termoregolazione. Esso interviene soprattutto nel segnalare la temperatura del tratto centrale del corpo, essendo prevalentemente espresso nelle cellule endoteliali dell'aorta centrale e dell'ipotalamo, ed essendo un termocettore con soglie di attivazione attorno ai 25°C; tuttavia, lo si può trovare espresso anche nei cheratinociti (assieme al TRPV3 che mostra invece una soglia di attivazione attorno ai 31-39°C) forse contribuendo anche al controllo della termoccezione periferica della pelle, con un meccanismo complesso di secrezioni paracrine di fattori come Calcio ed ATP.

b. Il termometro del freddo

Il sistema sta diventando sempre più interessante perché non solo esistono recettori-canale sensibili al caldo ma anche per la percezione del freddo (McKemy et al., 2002; Peier et al., 2002; Story et al., 2003). A partire da temperature fresche giù fino al freddo gelido nocivo, si può osservare una discreta sensibilità corporea grazie alla presenza di un ampio ventaglio di fibre specifiche che rappresentano circa il 10% delle vie sensitive primarie. Storicamente il meccanismo della percezione del freddo veniva attribuito all'inibizione dei processi fisiologici della polarizzazione elettrica delle membrane cellulari; in altre parole, si pensava che il freddo inibisse la pompa Na⁺/K⁺ che normalmente mantiene a riposo il potenziale elettrochimico della membrana cellulare. Alcuni autori (Viana et al., 2002) parlano di un modello un po' più raffinato nel quale è coinvolto una corrente di "freno" per opporsi alla permeabilità del canale del K⁺ che tenderebbe normalmente a depolarizzare la membrana; questo "freno" verrebbe inibito dal freddo, dando così via libera alla depolarizzazione globale della cellula recettrice. Sperimentalmente, la 4-aminopiridina che funziona inibendo l'effetto del "freno", renderebbe cellule che sono normalmente insensibili, improvvisamente sensibili al freddo.

Un modello alternativo darebbe credito ad una depolarizzazione non-selettiva della membrana e quindi ad una ipereccitabilità della cellula per effetto di temperature basse (<27°C).

Anche nel caso della termocezione alle basse temperature, i prodotti naturali ci sono venuti incontro nel facilitare lo studio dei meccanismi d'azione dei recettori TRP coinvolti; il Mentolo, in particolare, tende ad aumentare l'entrata di cationi depolarizzando i neuroni così come ad innalzare la soglia di attivazione dei recettori al freddo verso temperature più alte, rendendo quelle fibre nervose più sensibili ad un abbassamento termico esterno. L'identificazione, il clonaggio e l'espressione eterologa in ospite del gene TRPM8, uno dei recettori maggiormente espressi nelle terminazioni dei gangli dorsali e trigeminali, hanno dimostrato che questa molecola è un recettore che oltre che essere sensibile al freddo è anche sensibile al Mentolo. La risposta biofisica al mentolo e alla temperatura è inequivocabile nei transgeni che esprimono TRPM8, dove si può osservare una curva di saturazione stimolo-effetto del recettore clonato che va da 28°C a 8°C, analogamente a quanto si osserva nelle vie naturali. Oltre al TRPM8 altri recettori sono poi stati scoperti con diverse soglie di attivazione termica ma sempre sensibili al Mentolo indicando che anche qui come per i TRPV, sensibili al caldo, la famiglia è ampiamente variegata ma certamente conservata (Story et al., 2003).

CONCLUSIONI

E' evidente che il meccansimo della termocezione (thermal coding) in un eucariote superiore non può che essere molto raffinato. Innanzitutto il nostro organismo (che non possiamo semplificare come un oggetto puntiforme) quando viene investito da uno sbalzo termico esterno è come se entrasse in un gradiente termico e solo dopo

un certo tempo possiamo considerare la situazione esterna attorno a lui isoterma; in secondo luogo, a causa della presenza un po' ovunque nel nostro organismo di sottoraggruppamenti di recettori con diverse soglie di attivazione e quindi diverse curve di saturazione, la percezione del gradiente termico arriverà ai centri della termocezione da molte vie periferiche e con informazioni molto diversificate; ne deriva un modello di termocezione centralizzato di tipo "combinatorio", molto complesso certamente ma anche molto efficace, che tiene conto di una sommazione spaziale e temporale di segnali di diversa intensità.

Con la scoperta dei canali cationici, il meccanismo della termocezione, ci è ora un po' più chiara; e questo ci è arrivato dalla ricerca biochimica e biofisica ma anche grazie ad uno scherzo della natura che ci ha voluto "servire" sul piatto la Capsicina ed il Mentolo, non solo per il piacere del palato ma anche come utili agonisti vegetali per lo studio dei canali cationici della termocezione.

RIASSUNTO

Alcuni neuroni sensitivi del sistema nervoso periferico possono percepire un intervallo ampio di temperature, dal caldo estremo al freddo nocivo. I prodotti naturali come la Capsicina e il Mentolo che sono contenuti nel peperoncino piccante e nella menta, sono molecole capaci di stimolare sperimentalmente i neuroni sensibili alla temperatura; per questo, Capsicina e Mentolo sono usati in laboratorio come sonde per la ricerca, l'individuazione e l'isolamento dei recettori molecolari della termocezione. I recettori responsabili identificati appartengono ad una famiglia dalla sequenza altamente conservata e rappresentativa di canali cationici conosciuti come "TRP" (transient receptor potential).

SUMMARY

Peripheral nervous system provides the information of thermal stimuli by means of specific membrane receptors sensitive to signals from noxious heat to noxious cold in a wide range of modulations. Recent studies are now elucidating that these receptors belong to a highly conserved gene family expressing TRP (transient receptor potential) proteins which are cation channels. Surprisingly, high-temperature receptors recognize Capsaicin from hot pepper while the low-temperature ones recognize Menthol from pepper mint; then, these natural alimentary additives might be extensively used as laboratory chemical tools to reveal the signaling pathway of thermosensation.

PAROLE CHIAVE

Termocezione, capsicina, mentolo

RINGRAZIAMENTI

Ringraziamo la Dott.ssa E. Polverini del Dip. di Fisica dell'Università di Parma per l'aiuto che ci ha fornito nel ricostruire e minimizzare le energie in gioco delle strutture di Capsicina e Mentolo sulla base della formula.

BIBLIOGRAFIA

Caterina M. J., Leffler A., Malmberg A. B., Martin W. J., Trafton J., Peterson-Zeitz K. R., Koltzenburg M., Basbaum A. I. and Julius D. (2000) *Science*, 288, 306-313.

Davis J. B. et al. (2000) *Nature*, 405, 183-187.

Jordt S.-E., McKemy D. D. and Julius D. (2003) *Current Opinion in Neurobiology*, 13, 487-492.

Julius D. and Basbaum A. I. (2001) *Nature*, 413, 203-210.

McKemy D. D., Neuhausser W.M. and Julius D. (2002) *Nature*, 416, 52-58.

Montell C., Birnbaumer L., Flockerzi V., Bindels R. J., Bruford E.A., Caterina M. J., Clapham D. E., Harteneck c., Heller S. and Julius D. (2002) *Mol. Cell*, 9, 229-231.

Nagy I. and Rang H. (1999) *Neuroscience*, 88, 995-997.

Premkumar L. S. and Ahern G. P. (2000) *Nature*, 408, 985-990.

Reid G. and Flonta M. L. (2001) *Nature*, 413, 480.

Story G. M., Peier A. M., Reeve A.J., Eid S.R., Mosbacher J. Hricik T.R., Earley T.J., Hergarden A. C., Andersson D. A., Hwang, (2003) *Cell*, 112, 819-829.

Tominaga M., Caterina M. J., Malmberg A. B., Rosen T. A., Gilbert H., Skinner K., Raumann B. E., Basbaum A. I. and Julius D. (1998) *Neuron* 21, 531-543.

Vellani V., Mapplebeck S., Moriondo A., Davis J. B. and Mc Naughton P. A. (2001) *J. Physiol.*, 534, 813-825.

Viana F., de la Pena E. and Belmonte C. (2002) *Nature neurosci.*, 5, 254-260.

Welch J. M., Simon S. A. and Reinhart P. H. (2000) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 97, 13889-13894.

FIGURA 1 - *Strutture molecolari, rispettivamente, della Capsicina del peperoncino piccante e del Mentolo della menta piperita.*

