

# PROGESTERONE PLASMA PROFILES DURING THE FIRST MONTH AFTER A.I. IN THE SOW

Baratta M.<sup>1</sup>, Bussolati S.<sup>1</sup>, Tamanini C.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Istituto di Fisiologia Veterinaria, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Parma*

## Introduction.

Low reproductive efficiency is still of considerable economic significance in the pig industry worldwide. A reduction in mating and farrowing rates are among the most frequently reported and important symptoms of this syndrome (Wan et al., 1994), particularly during the summer season (summer hypo- or infertility; Love et al., 1993). Seasonal effects, management and nutrition all appear to be involved in this problem and one of these factors may predominate, depending on the different country or region. For example, photoperiod seems to be responsible for the reduction of fertility during the summer season in Northern European countries and a considerable amount of research is being done to determine how pigs, essentially short-day breeders, recognize and respond to changes in daylight. A 10% or greater reduction in the number of sows farrowing has been estimated during the summer-autumn period in these countries (Cutler and Gardner, 1988). In areas close to 45° North Latitude, temperature has been proposed as the cause of low reproductive efficiency. Both high and low temperatures may interfere with fertility, probably depending on the degree of humidity and it is therefore not easy to establish how thermal stress is involved (Wetterberg and Bazer, 1985). Managerial factors may influence fertility, including social interactions and housing. A number of pheromonal influences caused by group size and crowding inhibit the attainment of puberty in young females and estrus expression in mature ones (Clark et al., 1985). Provision of individual stalls for mated sows has been demonstrated to significantly improve the farrowing rate during the summer-autumn period (Hurtgen and Leman, 1980). Groups of 5 or 6 sows appear to be less affected by infertility than do large groups. It is not clear how individual stalls reduce infertility. They may reduce the stress, but they even may disrupt the group social interaction, negatively affecting fertility or level of nutrition (Love et al., 1993). Finally, it is well known that a relationship exists between nutrition and reproduction and between feed intake and embryo survival (Cole, 1982). Interestingly, Grandhi (1988) reported that concentrations of progesterone in plasma and embryo survival are low in gilts fed diets supplemented with fat during gestation. The mechanism underlying the reduction in plasma progesterone associated with increased feed or energy intake during early gestation is still unknown.

The overall factors that are responsible for the difficulty to conceive and /or maintain gestation could be reflected in endocrine disorders, which appear particularly decisive during the first weeks of pregnancy (Roberts et al., 1993). These disorders might be related to concentrations in progesterone, the main hormone of pregnancy, as has been shown in several of the cases described above.

The aim of this study was to determine progesterone plasma concentrations in sows and gilts during the first weeks after artificial insemination (a.i.), in different periods of the year. Furthermore, we wanted to examine the effects of progestative therapy during the first weeks after a.i. on reproductive performances, thus testing the role of this hormone in preventing abnormalities during this period of gestation.

## Materials and Methods

*Animals.* The experiment was carried out in different pig farms located in Northern Italy (44° North Latitude) consisting of 400-600 animals (Large White and Large White-Landrace hybrids). Sows (18-30 months old, weighing at least 110-120 kg) and gilts were artificially inseminated in single cages where they remained till pregnancy diagnosis, which was performed by ecography (RT 50 General Electric) 25-28 days after artificial insemination (a.i.).

*Relevant disease history.* In the pig farms considered, gilts are usually vaccinated (leptospira, parvovirus, erysipelothrix) prior to insemination; booster vaccinations against leptospira are carried out at each weaning.

## Experiment 1

64 sows and 64 gilts, uniformly distributed during the summer (June - September), were studied. Blood samples were collected from the jugular vein twice weekly for 31 days beginning the day of insemination.

## Experiment 2

34 sows uniformly distributed during the months of January and February were studied. Blood samples were collected from the jugular vein twice weekly for 31 days beginning the day of insemination.

## Experiment 3

60 sows were divided into three groups (A, B, C) of 20 animals each during the period between June and October. Group A was used as control; group B was treated with progesterone (20 mg, Progest-E); group C was treated with hCG (200 I.U, Coriovis 5000). In B and C groups the treatments were carried out every two days from day 10 to day 24 after a.i. From day 5 to day 25 after a.i. blood samples were collected twice weekly from all the sows from the jugular vein. Reproductive data on each animal were collected at farrowing.

*Progesterone assay.* Plasma samples were immediately frozen after collection and stored at -20°C until P4 determination which was performed by RIA as described previously (Grasselli et al., 1993). The assay sensitivity and ED50 were 0.02 ng/ml and 0.3 ng/ml; extraction efficiency was 99 ±0.6% (X ± SD), blank value was 0.001 ng/ml. Both intra- and inter- assay coefficients of variation were less than 12%.

*Statistical analysis.* Untransformed data were analysed by one way-ANOVA; Student's *t* test was performed to compare means.

## Results

### Experiment 1

The reproductive parameters are reported in Table 1. The number of animals diagnosed as pregnant on the basis of P4 plasma profiles were 30 and 23, sows and gilts respectively, while 34 sows and 27 gilts were diagnosed as pregnant by ecography. Twentyfour out of 34 open sows exhibited cycling activity (cycle length: 17.9 ± 3.1 days, mean ± SD), 3 showed irregular luteal activity and 7 were anestrus. Of the open gilts, 19 were cycling (cycle length: 17.7±3.5 days), 15 showed irregular luteal activity and 7 were anestrus.

	animals	E	P4	F	litter size ± SD
sows	64	34	30	14	10.3±3.6
gilts	64	27	23	13	8.7±4.0

Table 1. Reproductive parameters observed during the whole experimental period. E = positive pregnancy diagnosis by ecography; P4 = positive pregnancy diagnosis on the basis of P4 plasma profiles; F = farrowings.

Fourteen sows and 13 gilts (all previously diagnosed as pregnant on the basis of both ecography and P4 plasma concentrations) delivered and the average litter size was 10.3±3.6 and 8.7 ±4.0, respectively.

P4 plasma profiles in pregnant sows and gilts are shown in Fig. 1. P4 plasma levels increased soon after insemination in both groups of animals and the highest concentrations were observed 10 and 14 days after a.i. A significant decrease was then observed till day 24. P4 blood levels at days 21 and 24 were significantly lower ( $p < 0.05$ ) than those at days 10-14 in both sows and gilts. Differences between sows and gilts were maximum at day 7 (20.6±2.7 ng/ml vs 13.1±2.2,  $p < 0.02$ ), 10 (28.9±2.9 vs 20.9±2.6,  $p < 0.05$ ) and 14 (32.26± 3.42 vs 26.89±12.25,  $p < 0.002$ ).

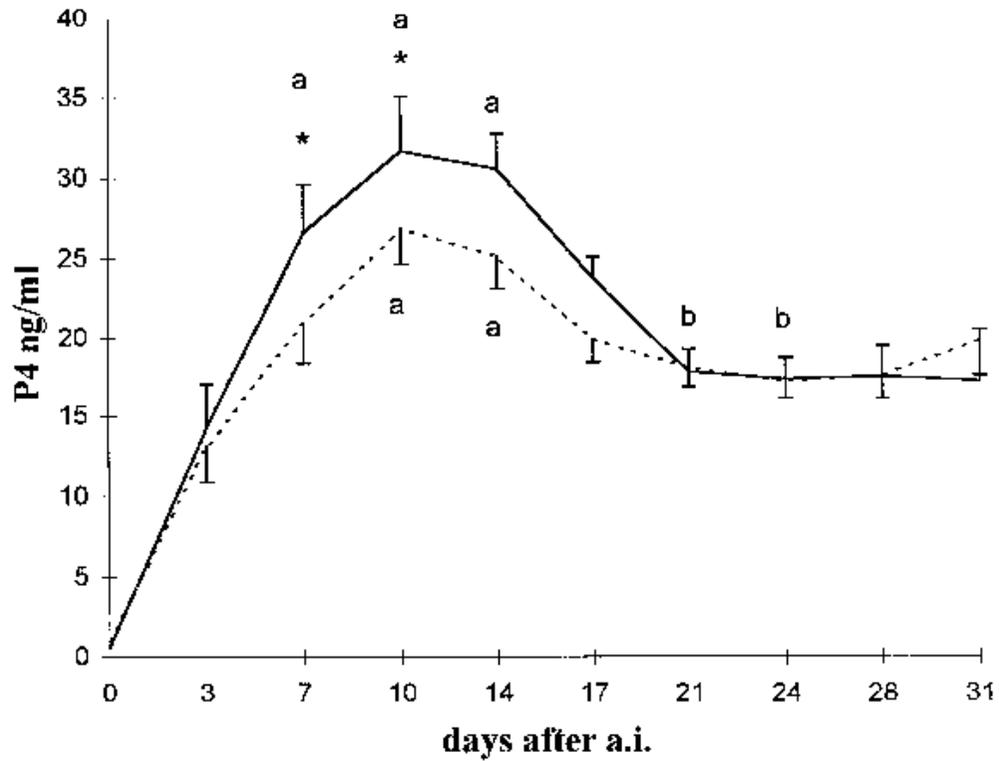


Fig. 1. P4 plasma concentration in pregnant sows (---) and gilts (- - -) during the first month of gestation in summer season. \*= significant differences (at least  $p < 0.05$ ) between the two profiles; different letters indicate significant differences ( $p < 0.05$ ) inside the same profile.

#### Experiment 2

Reproductive parameters are reported in Table 2. Nineteen sows were diagnosed as pregnant by ecography and on the basis of P4 plasma profiles; 12 open sows showed a regular cycling activity, 2 animals exhibited an irregular ovarian activity and 1 was anestrus. P4 plasma profile evidenced a decrease in P4 plasma levels later than in summer season (Fig. 2): in fact, P4 concentrations remained high till day 17 ( $31.9 \pm 2.3$  ng/ml) after a.i..

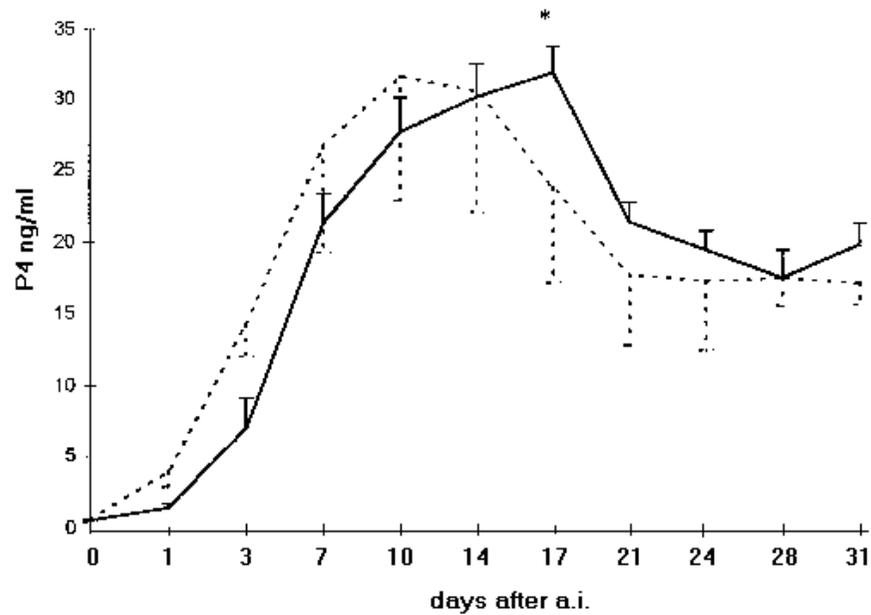


Fig. 2. P4 plasma concentration in pregnant sows during the first month of gestation in summer (- - -) and winter season (---). \* = significant difference,  $p < 0.05$ .

### Experiment 3

The patterns of P4 blood concentrations during the experimental period are reported in Fig. 3. In the control group, P4 plasma level increased from day 5 ( $19,8 \pm 3,9$  ng/ml) to day 12 after a.i. ( $32,9 \pm 4,7$  ng/ml), then decreased to 20 ng/ml and remained at this level until the end of the experimental period. Exogenous P4 did not modify P4 blood concentrations; hCG treatment enhanced P4 plasma concentrations as compared to those in both control and P4- treated groups ( $p < 0,001$ ). Furthermore, P4 plasma levels remained higher in this group than in the other two groups until the end of the experiment. Finally, hCG treatment reduced individual variability ( $p < 0,05$ ) as compared to the other two groups.

Positive pregnancy diagnosis 25-28 days after a.i. was: A = 13, B = 13, C = 14. Litter sizes at farrowing were: A =  $9,3 \pm 1,1$  (n=12); B =  $10,8 \pm 2,1$  (n=10); C =  $10,1 \pm 0,9$  (n=11).

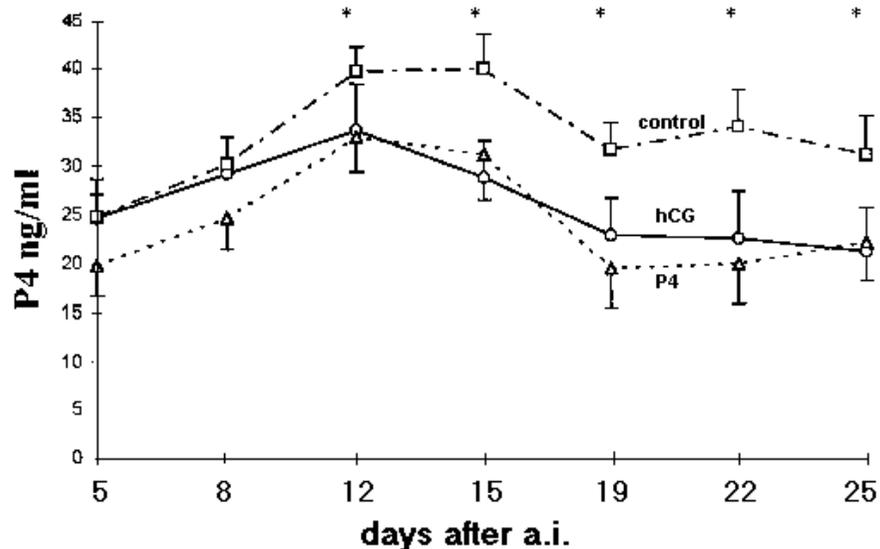


Fig. 3. P4 plasma concentration in control, P4 and hCG groups. \* =  $p < 0.05$  between hCG- and both control and P4 groups.

	<b>SOWS</b>	<b>P</b>	<b>C</b>	<b>I.O.A.</b>	<b>A</b>
<b>summer</b>	64	30	24	3	3
<b>winter</b>	34	19	12	2	1

Table 2. Monitoring of P4 levels in plasma during the first month after a.i. - P = positive pregnancy diagnosis on the basis of P4 profiles; C = cycling animals; I.O.A. = animals showing irregular ovarian activity; A = anaestrous animals.

## Discussion

The present data confirm a previous report on the incidence of infertility in both sows and gilts due to either low conception rate or high percentage of interrupted pregnancies, especially during the summer season (Baratta et al., 1996). The accuracy of positive pregnancy diagnosis (performed by both ecography and examination of P4 plasma profiles) is scarce due to the high rate of interrupted pregnancies during the period of higher infertility. Even if we do not know the percentage of embryonal reabsorptions during the second month of pregnancy, we may assume that it is high, as previously reported (Britt et al., 1983). On the contrary, the accuracy of negative pregnancy diagnosis is very high, given that none of the animals diagnosed as not pregnant subsequently farrowed. With P4 monitoring it was also possible to determine if a.i. failure was related to seasonality or, more generally, to endocrine disorders. Another cause of a.i. failure may be inappropriate inseminations (i.a., inseminations of sows with irregular estrous cycles or in anestrus).

Finally, P4 determination revealed a high incidence of short estrous cycles during the summer season in both sows and gilts, along with a significant (7) number of

anestrous sows; a lower percentage of irregular cycles and anestrous animals were observed during the winter.

The marked decrease of P4 plasma concentrations in both pregnant sows and gilts from day 14 in summer and from day 17 in winter suggests that this may be a critical period from the endocrine point of view, as gestation does not seem to be adequately supported by ovarian activity (Love et al., 1993).

The lower P4 plasma values observed in gilts than in sows during the first days of pregnancy confirm a lower ovarian activity in young animals, which may account for a lower litter size. The high incidence of both short cycles and lack of P4 production in both sows and gilts is related to inappropriate ovarian activity during the summer period.

Interestingly, during the winter season sows have been shown to exhibit a 3-day delay in P4 plasma decrease; this could be related to a lesser reduction of infertility rate. This observation leads us to hypothesize that P4 plasma concentrations during the first 2 weeks after a.i. may be related to fertility and prolificacy parameters and that a decrease in this hormone, due to various factors like photoperiod, temperature, nutrition, or management may lower reproductive efficiency. It should be noted that most of the corpora lutea present on the ovary of pregnant sows and gilts are represented by viable blastocysts at days 9 to 10 of pregnancy (Xie et al., 1990). However, only about 70-80% of these blastocysts are estimated to survive until day 25 (Pope and First, 1985). In fact, this period has been reported to be critical for the initial embryo-uterine relationship from day 12 after a.i. (Pusateri et al., 1996). Losses are higher in sows than in gilts and are greatest when a high number of ovulations occur (Roberts et al., 1993). A previous study (Lambert et al., 1991) has indicated that most of embryonic losses occur before day 10 of pregnancy. These observations, however, have been made on young, first-cycle gilts, and peripubertal gilts tend to have an extended pro-estrus with a prolonged estrogen peak. Consequently, the oocytes of the first-cycle gilts may become developmentally defective owing to overexposure to the steroid (Archibong et al., 1987). Nevertheless, whatever the timing of embryonic death, this remains poorly explained and has a severe impact on productivity and hence profitability in the industry. It has been proposed that embryonic loss results from asynchronous development among littermates, a phenomenon that leads to poorly coordinated biochemical interactions between the conceptuses and the maternal systems (Pope, 1988; Pope et al., 1990). Smaller, less advanced conceptuses are thought to be especially affected because they are asynchronous with the phase with the uterine environment. Some early losses may simply result from the inability of embryos to maintain their rate of development when the uterine becomes an increasingly hostile environment, although the nature of the toxic response remains poorly understood. The situation is somewhat clearer at day 10 to 12 of pregnancy, when many investigators have suggested that production of estrogen by the larger conceptuses, as well as being responsible for extending the functional lifespan of the corpora lutea, causes a sudden change in the uterine milieu that cannot be tolerated by those conceptuses already lagging in development (Morgan et al., 1987; Pope, 1988).

Progesterone at this time could possibly support the youngest blastocysts present in the uterine corn. Progestinic treatments have been reported to be successful during the first 3-4 days after a.i. to correct P4 decrease induced by high feed levels after mating, that is responsible for an increase in embryonic mortality (Parr et al., 1993).

Our treatments gave contrasting results: in particular, exogenous P4 did not modify total P4 levels. We believe that the amount of hormone was not sufficient to maintain a constant concentration in blood or that it exerted an inhibitory effect on the production of the steroid by corpora lutea by exerting a negative feed-back with a consequent inability to enhance total P4 levels. hCG treatment did increase P4 production. We may therefore assume that this treatment has been effective in giving significant luteotrophic support. Reproductive parameters cannot support definitive conclusions about the efficacy of the treatment because of the low number of sows studied. However, it seems likely that the increase of P4 concentration does not influence fertility rate, as diagnosed 25-28 days after a.i. Furthermore, it must be taken into account that litter size in treated animals was larger. This data could be interpreted as a consequence of the positive role of P4 in protecting immature blastocysts during the critical period, described above, of the second week of pregnancy. In this case, prolificacy, but not fertility rate, may be influenced. More extensive experiments with a larger number of animals have to be carried out in order to confirm this hypothesis.

In conclusion, the determination of P4 plasma levels during the first weeks after a.i. permits a better understanding of the endocrine environment of both pregnant and non pregnant animals. Different individual and herd responses to a.i. have been pointed out. Interestingly, P4 concentration during the second week of pregnancy may be correlated with prolificacy and progestative therapies in this "critical period" may be optimized to improve reproductive parameters. Taken together, data from this study strongly support the view of endocrine disorders during the first 2 weeks of pregnancy.

## **Acknowledgments**

We thank Solvay Veterinaria (Parma - Italy) for generously supplying Coriovis 5000 and Progesterone-Vit-E.

Riassunto. In questo studio vengono riportati i profili dei livelli ematici del P4 in scrofe e scrofette durante il periodo estivo e quello invernale, nonché i parametri riproduttivi (fertilità e prolificità); vengono anche riportati i risultati di un protocollo di supporto progestinico attuato durante le prime settimane di gravidanza al fine di un miglioramento dell'efficienza riproduttiva. Sono state studiate 64 scrofe e 64 scrofette nel periodo tra giugno e settembre e 34 scrofe nel periodo gennaio-

febbraio; a tutti gli animali sono stati effettuati prelievi di sangue 2 volte alla settimana durante il primo mese dopo l'I.A. In un altro esperimento 60 scrofe sono state divise in 3 gruppi di 20 animali ciascuno: gruppo A, controllo; gruppo B trattato con P4 (20 mg i.m.), gruppo C trattato con hCG (200 U.I. i.m.); in entrambi i gruppi i trattamenti sono stati effettuati ogni 2 giorni dal 10° al 24° giorno dopo l'i.a. Nei 3 gruppi i prelievi di sangue sono stati effettuati dal 5° al 25° giorno dopo l'i.a. La diagnosi di gravidanza è stata effettuata mediante ecografo al 25°-28° giorno dopo i.a. Il P4 in tutti i campioni plasmatici raccolti è stato dosato tramite RIA. I risultati mostrano uno scarso indice di fertilità sia nelle scrofe che nelle scrofette durante il periodo estivo con presenza di cicli corti ( $17.9 \pm 3.1$  giorni,  $n=24$ ), attività luteale irregolare ( $n=3$ ), situazioni di completo anestro ( $n=7$ ). Durante la stagione invernale si osserva un miglioramento della fertilità ed una riduzione dei cicli irregolari. Negli animali gravidi il profilo ematico del P4 presenta una riduzione dopo il 14° giorno in estate e dopo il 17° giorno in inverno. Il trattamento con hCG mantiene elevata la concentrazione dello steroide durante tutto il periodo considerato mentre il trattamento con P4 non induce alcuna modificazione rispetto al controllo. L'indice di fertilità non viene modificato dai due trattamenti mentre la prolificità sembra essere positivamente influenzata ( $A = 9,3 \pm 1,1$ ;  $B = 10,8 \pm 2,1$ ;  $C = 10,1 \pm 0,9$ ). In conclusione il monitoraggio del P4 può essere utilizzato per una migliore comprensione di alcuni squilibri endocrini responsabili della ridotta efficienza riproduttiva nella specie suina; una terapia di supporto progestinico sembra in grado di migliorare la prolificità.

Parole chiave: gravidanza, progesterone, scrofa

Abstract. In this study we report P4 plasma profiles and reproductive parameters (fertility and prolificacy) in sows and gilts during the summer and winter seasons. Furthermore, we report the results of progestinic therapy carried out during the first weeks of pregnancy to optimize reproductive efficiency. Sixtyfour sows and 64 gilts were studied between June and September and 34 sows between January and February. Blood samples were collected twice weekly during the first month after a.i. from all the animals. In another experiment, 60 sows were divided into 3 groups of 20 animals each: A, control; B treated with P4 (20 mg i.m.) and C, treated with hCG (200 I.U. i.m.). Treatments were carried out from day 10 to day 24 after a.i. Diagnosis of pregnancy was determined by ecography 25-28 days after a.i. Blood samples were collected from day 5 to day 25 after a.i. P4 concentrations were determined by a validated RIA. A scarce fertility rate was observed in both sows and gilts during the summer which exhibited many short cycles ( $17.9 \pm 3.1$  days,  $n=24$ ), irregular luteal activity ( $n=3$ ), anestrus ( $n=7$ ). During the winter season, an increase in fertility rate and a reduction of irregular cycles were observed. Pregnant animals presented a decrease of P4 plasma levels 14 and 17 days after a.i. in summer and winter, respectively. hCG treatment maintained high steroid concentrations throughout the experimental period while P4 treatment did not induce any effect. Fertility rate was not influenced by either treatments, while prolificacy appeared to be positively affected ( $A=9.3 \pm 1.1$ ;  $B=10.8 \pm 2.1$ ;  $C=10.1 \pm 0.9$ ). In conclusion, P4 monitoring could be used to better understand possible endocrine disorders responsible for infertility in pigs and progestinic therapy seems to exert a positive effect on prolificacy.

Key words: pregnancy, progesterone, sow

RÉSUMÉ. Dans cette étude nous avons cherché à déterminer les profils hématiques de la progestérone (P4) et les paramètres reproductifs (fertilité et prolificité) dans des truies et des jeunes truies. Dans une première expérience 64 truies et 64 jeunes truies étaient étudiées pendant juin et septembre et 34 truies pendant janvier et février; deux prises de sang par semaine pendant le premier mois après la fécondation artificielle (f.a.) ont été faites à tous les animaux. Dans la seconde expérience 60 truies ont été divisées en trois groupes (20 animaux/groupe): groupe A, contrôles; groupe B, animaux traités avec P4 (20mg i.m.) tous les deux jours de dixième à vingt-quatrième jour après la f.a.; groupe C, animaux traités avec hCG (200 U.I. i.m.) tous les deux jours de dixième à vingt-quatrième jour après la f.a. Dans les trois groupes les prises de sang ont été faites chaque jour de cinquième à vingt-cinquième jour après la f.a. La concentration plasmatique en progestérone des échantillons était déterminée par RIA. Pendant l'été tous les animaux montraient un faible taux de fertilité avec brefs cycles ( $17.9 \pm 3.1$  jours,  $X \pm DS$ ,  $n=24$ ), activité lutéale irrégulière ( $n=3$ ), anoestrus total ( $n=7$ ). Le taux de fertilité s'améliorait et les cycles irréguliers se réduisaient pendant l'hiver. Les animaux gravides montraient une réduction de la progestérone plasmatique après le quatorzième jour en été et après le dix-septième jour en hiver. Le traitement avec hCG maintenait élevée la concentration du stéroïde pendant toute la période prise en considération, tandis que le traitement avec la progestérone n'induisait aucune différence avec les contrôles. Le taux de fertilité n'était pas modifié par les deux traitements; la prolificité était peut-être positivement influencée ( $A=9.3 \pm 1.1$ ;  $B=10.8 \pm 2.1$ ,  $C=10.1 \pm 0.9$ ). En conclusion on pourrait suggérer que l'analyse de la progestérone peut être utilisée pour mieux comprendre des dysendocrinies impliquées dans l'insuffisance reproductive porcine; à ce qu'il paraît la thérapie avec progestérone peut améliorer la prolificité.

Mots-clés: grossesse, progestérone, truie.

## REFERENCES

- Archibong AE, England DC, Stormshak F. (1987) Ovulation and embryonic survival in pubertal gilts treated with gonadotropin releasing hormone. J. Anim. Sci., 65: 752-755.
- Baratta M., Rolla G., Pinta G., Basini G., Tamanini C. (1996) Reproductive parameters and P4 plasma profiles along the first month after AI in sows and gilts during the summer period. Proc. 14th IPVS p. 745.
- Britt JH, Szarek VE, Levis DG (1983) Characterization of summer infertility of sow in large confinement units. Theriogenology, 20: 133-38.
- Clark JR, Faillace LS, Tribble LF, Orr DE, Bell RW. (1985) Effects of composition and density of the group and pheromone treatment on puberty in gilts reared in confinement. J. Reprod. Fert., 33: 209-13.
- Cole DJA. (1982) Nutrition and reproduction. In "Control of Pig Reproduction" 603-619, Eds DJA Cole and GR Foxcroft, Butterworth, London.
- Cutler R, Gardner I. (1988) A blue print for pig health research. Pig Research Council, Camberra.
- Grandhi RR. (1988) Effects of nutritional flushing, supplemental fat and supplemental lysine from puberty to breeding and during early gestation on reproductive performance of gilts. Can.

- J. Anim. Sci., 68: 941-951.
- Grasselli F, Baratta M, Tamanini C. (1993) Effects of a GnRH analogue (buserelin) infused via osmotic minipumps on pituitary and ovarian activity of prepubertal heifers. Anim. Reprod. Sci., 32, 153-61.
  - Hurtgen JP, Leman AD. (1980) Seasonal influence on the fertility of sows and gilts. J. Am. Vet. Res. Med. Assoc., 177: 631-635.
  - Lambert E, Williams DH, Lynch PB, Hanrahan TJ, McGeady TA, Austin FH, Boland MP, Roche JF. (1991) The extent and timing of prenatal loss in gilts. Theriogenology, 36: 655-665.
  - Love R J, Evans G, Klupiec C. (1993) Seasonal effects on fertility in gilts and sows. J. Reprod. Fert., 48: 191-96.
  - Mattioli M, Taschini S, Galeati G, Seren E. (1983) Possibility of assessing the incidence of fetal mortality in sows by early pregnancy diagnosis. Selez. Vet., 24: 1333-37.
  - Morgan G, Geisert RD, Zavy MT, Shawley RV, Fazleabas AT. (1987). Development of pig blastocysts in a uterine environment advanced by exogenous oestrogen. J. Reprod. Fert., 80: 125-131.
  - Parr RA, Hughes PE, Davis IF, Miles MA, Ferlazzo JC. (1993) Nutrition, progesterone and the early pig embryo. Proc. Fourth Intern. Conf. on Pig Reprod. Columbia. p.93.
  - Pope WF, First NL. (1985) Factors affecting the survival of pig embryos. Theriogenology, 23: 91-105.
  - Pope WF. (1988) Uterine asynchrony: a cause of embryonic loss. Biol. Reprod., 39: 999-1003.
  - Pope WF, Xie S, Broermann DM., Nephew KP. (1990) Causes and consequences of early embryonic diversity in the pig. J. Reprod. Fert., 40: 251-260.
  - Pusateri A, Wilson ME, Diekman MA. (1996) Maternal recognition of pregnancy in swine. II. Plasma concentrations of progesterone and 13,14-dihydro-15-keto-prostaglandin F2a during the estrous cycle and during short and long pseudopregnancy in gilts. Biol. Reprod., 55: 590-597.
  - Roberts MR, Xie S, Trout WE. (1993) Embryo-uterine interactions in pigs during week 2 of pregnancy. J. Reprod. Fert., 48: 171-186.
  - Wan SS, Hennessy DP, Cranwell PD. (1994) Seasonally infertility, stress and adrenocortical responsiveness in pigs. Anim. Reprod. Sci., 34: 265-79.
  - Wetterberg L, Bazer FW. (1985) Influence of environmental temperature on prolificacy in pigs. J. Reprod. Fert., 33: 109-208.
  - Xie S, Broermann DM, Nephew KP, Geisert RD, Pope WF. (1990) Ovulation and early embryogenesis in swine. Biol. Reprod., 43: 236-240.

## IL PEDOMETRO NELLA CORRETTA GESTIONE DELLA MANDRIA: CALORI SILENTI E FALSI CALORI

Marusi A.,<sup>1</sup> Bonazzi G.,<sup>2</sup> Orsi G. <sup>2</sup>

1) *Istituto di Ostetricia Veterinaria*

2) *Medici Veterinari, liberi professionisti. Lesignano B., Parma*

### Premessa

Da qualche tempo seguiamo un sistema informatico di gestione della mandria in funzione in un allevamento di vacche da latte ad alta produzione. Il sistema è impostato in modo di registrare:

- il comportamento motorio degli animali, pedometro;
- la quantità di latte prodotto e la sua qualità con il controllo della conducibilità per rilevare le bovine con sospetta mastite, lattometro.

Il pedometro si prefigge principalmente di segnalare l'estro e pertanto di indicare il momento ottimale di inseminazione.

La rilevazione dell'estro in una mandria composta da 50-100 e più capi in produzione, che è il numero di vacche che sempre più sono presenti nelle aziende site nelle zone ad alta produzione lattea come la pianura padana, non sempre è facile per l'allevatore. Il comportamento estrale come tentativi di monta su altre vacche, irrequietezza, diminuzione della produzione lattea, può differire notevolmente da una vacca all'altra. Tenendo conto poi che oggi, con le moderne tecnologie in agricoltura è diminuito notevolmente il personale addetto alla conduzione della stalla, l'osservazione del comportamento delle vacche in stabulazione libera è diventata più difficile.

La genetica in questi ultimi anni ha notevolmente aumentato la produzione lattea; sono sempre più presenti in allevamento bovine che producono oltre 100 Q di latte, nei 305 giorni di lattazione considerati dalle associazioni di razza, ciò ovviamente ha diminuito la funzionalità ovarica e molte vacche, pur avendo calori ciclici, presentano calori silenti difficili da rilevare. Il periodo parto-concepimento, che per essere economicamente valido deve rimanere entro 100 giorni dal parto, è notevolmente aumentato in media fino a 120 e più giorni con notevole danno economico per l'allevatore.

Considerato che l'infertilità oggi è la causa più frequente di eliminazione dagli allevamenti da latte, più della bassa produzione, mastiti o altre malattie, ecco che sempre più è necessaria la collaborazione fra veterinario e allevatore nel controllo della fertilità per il miglioramento della produttività aziendale come è stato messo in evidenza anche nel recente convegno di Salsomaggiore (Betti 1997).

Il sistema informatico di gestione dell'allevamento, che utilizza il pedometro e il lattometro, non è un sistema sostitutivo nella gestione manageriale della mandria ma è un sistema complementare che rende possibile intervenire in maniera mirata e più corretta nel controllo sanitario e riproduttivo.

Il pedometro registra automaticamente nelle 24 ore l'attività motoria dell'animale, tuttavia non è in grado di differenziare un'attività motoria indotta da un calore silente da un comportamento estrale che spesso presenta una vacca già gravida e che può, pertanto, essere ritenuta vuota ed erroneamente inseminata.

La collaborazione veterinario-allevatore, nell'interpretazione dei dati informatici, migliora la gestione sanitaria e riproduttiva dell'allevamento: In tal modo l'intervento del veterinario (ed il costo ad esso connesso) viene visto dall'allevatore come un fattore positivo e non come un "male necessario" ( Romagnoli 1977).

### Materiali e metodi.

Da circa due anni seguiamo il controllo informatico della lattazione e dell'estro in un allevamento di bovine da latte ad alta produzione: 100 capi adulti di cui 74 in lattazione, produzione media per capo Q. 92,23 / anno 1996.

In questo allevamento il sensore per la registrazione della motilità, pedometro, nelle bovine in lattazione viene allacciato al collare, anziché al piede. Ciò in quanto vi sono meno rischi di danni al sensore, per il fatto che le bovine dispongono, in questa azienda a stabulazione libera, di spazio ridotto.

Ogni bovina attraverso il sensore viene identificata elettronicamente e, attraverso il sensore, vengono registrati tutti gli spostamenti compiuti dall'animale nelle 24 ore per un periodo di 30 giorni. I dati vengono trasmessi ad una centralina elettronica di rilevamento mediante una antenna messa in prossimità della posta in sala di mungitura. La rivelazione dei calori si basa su un netto incremento dell'attività motoria rispetto alla media individuale per ogni vacca. Tutto l'ammontare di informazioni, rilevate attraverso il sensore, fluisce ad un computer centrale, posto in un locale vicino alla sala di mungitura, da dove l'allevatore provvede a rilevare l'alterata attività motoria e quindi, se la bovina è in calore, valutare se procedere alla fecondazione.

Oltre al sensore per la motilità, nella sala di mungitura è inserito anche il lattometro. Questo sensore, attraverso gli elettrodi posti nel suo interno, rileva la quantità di latte prodotto e il grado di conducibilità elettrica che viene modificata in seguito ad alterazioni nella composizione del latte. Pertanto in tal modo si può rilevare un processo infiammatorio iniziale, come la mastite subclinica, prima della manifestazione clinica.

Il sistema è stato adattato alle caratteristiche dell'allevamento: numero di capi, spazio a disposizione per capo, motilità connessa al calore, che è un elemento variabile per ciascun capo. Pertanto i primi tre mesi, dall'installazione, sono stati utilizzati per definire una soglia di deviazione dal dato medio di motilità ed anche per il parametro di conducibilità elettrica del latte che è specifico per ogni vacca e tende ad aumentare con il procedere della lattazione. Anche il personale ha utilizzato questa fase di adattamento dell'apparecchiatura alla mandria, per prendere dimestichezza sulla sua corretta gestione.

A partire da 40 giorni dal parto, nel caso che sul computer venga segnalato in una bovina un picco di motilità elevata accompagnata da un'indicazione di abbassamento, non elevato ma significativo, della produzione lattea, l'allevatore controlla se la bovina è in calore. L'esame vaginale, con la presenza di muco filante e trasparente, conferma lo stato estrale e la bovina può essere fecondata.

Di norma l'inseminazione artificiale viene fatta dal veterinario in modo che questi prima di procedere all'intervento esegua una rapida ma importante visita utero-ovarica a conferma non solo del calore ma delle buone condizioni dell'apparato riproduttore.

Comunque tutte le bovine, anche nel caso vengano inseminate da un operatore aziendale qualificato, vengono sottoposte dal veterinario aziendale ad un accurato controllo post partum, al fine di accertare una buona involuzione uterina e un normale ritorno alla funzionalità ovarica.

A 30-35 giorni dall'inseminazione, anche se non è stato rilevato alcun segno di calore, si procede al controllo ecografico dell'utero per un primo accertamento di gravidanza, che verrà poi confermata clinicamente a partire dal 50° giorno.

### Osservazioni personali

Dopo 3-4 mesi, presa una certa dimestichezza con la gestione del sistema informatico dello allevamento, l'allevatore si accorse che molte bovine presentavano, a distanza di 40-45 giorni dall'inseminazione, segni di una maggior motilità, come se fossero in estro. Questi animali erano già stati ritenuti gravidi dall'esame ecografico e la segnalazione sul computer induceva al sospetto, più che ad una mancata gravidanza, di un aborto embrionale.

La visita del veterinario su queste vacche, confermava lo stato di gravidanza ed il rilievo del falso calore.

La collaborazione veterinario-allevatore nella gestione della mandria ha consentito di superare anche questo problema, evitando i gravi danni, in questo caso l'aborto, che la fecondazione artificiale avrebbe indotto in una vacca già gravida ma con comportamenti estrali. Purtroppo in un'altra azienda abbiamo potuto constatare due casi di aborto indotto, in animali gravidi con segni di estro, dall'intervento di inseminazione effettuato dall'allevatore stesso.

Oltre alla identificazione e registrazione dell'incremento della attività motoria nelle bovine gravide (fig.1) da 6 vacche abbiamo prelevato due campioni di sangue dalla vena coccigea, precisamente il primo a 32-36 giorni ed il

secondo a 41-43 giorni di gestazione. Sul siero sono stati dosati i livelli di estradiolo 17 beta e di progesterone secondo la tecnica R.I.A.

## Risultati

Il livello di estradiolo 17 beta è aumentato in modo non elevato, ma significativo, in 5 bovine su 6 (valore medi I prelievo  $7,9 \text{ pg} \pm 2,2 \text{ ds}$ ; II prelievo  $9,5 \text{ pg} \pm 3,1 \text{ ds}$ ) associato all'aumento del progesterone (valore medi I prelievo  $1,48 \text{ ng} \pm 0,63 \text{ ds}$ ; II prelievo  $1,81 \text{ ng} \pm 0,73 \text{ ds}$ ). (fig.2-3).

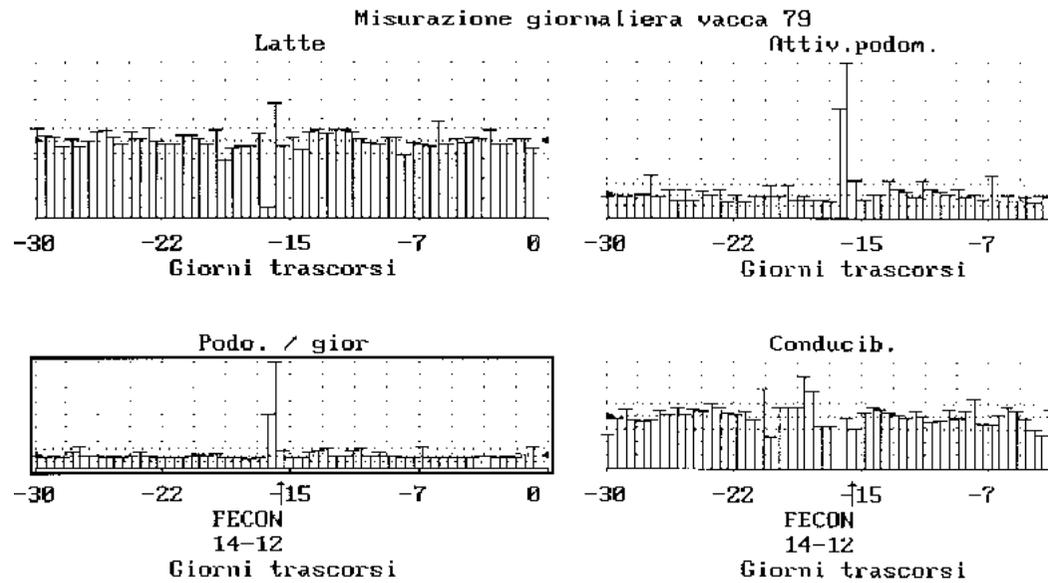


Fig. 1. Misurazione giornaliera bovina n. 79. Il pedometro indica che la bovina è da inseminare (fecon). La visita veterinaria ha confermato la gravidanza di 43 giorni.

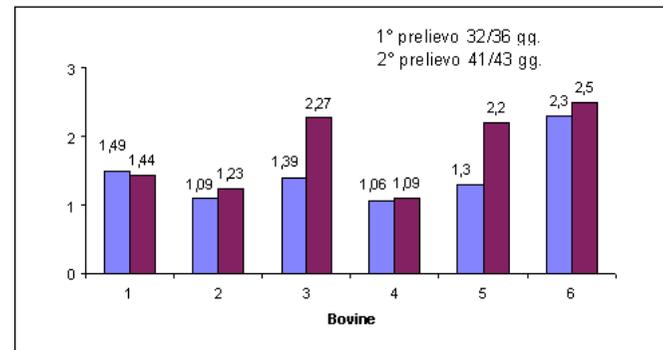


Fig. 2 LIVELLO DI PROGESTERONE (ng/ml) alla quarta e sesta settimana di gravidanza.

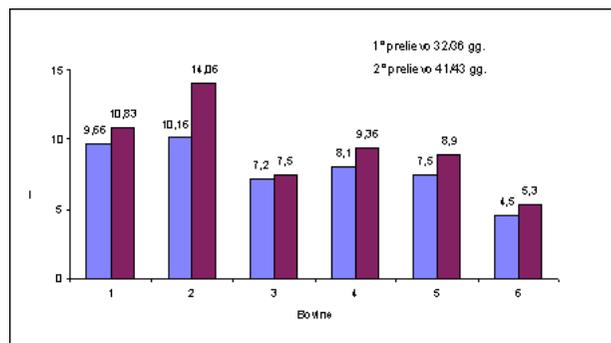


Fig. 3 LIVELLO DI ESTRADIOLIO 17 $\beta$  (pg/ml) alla quarta e sesta settimana di gravidanza.

L'aumento degli estrogeni, evidenziato nella 6° settimana di gestazione, è strettamente correlato ad aumento della motilità evidenziato dal pedometro nello stesso periodo in bovine già diagnosticate gravide.

#### Considerazioni e conclusioni.

Già da molto tempo è noto che talvolta le bovine possono mostrare segni di estro durante la gravidanza: di norma tali manifestazioni di calore si presentano nel primo trimestre di gestazione e con una percentuale del 6% circa delle gravide in una mandria (Donoho et al. 1955; Erb et al. 1958).

Questo estro viene associato ad una crescita follicolare, non seguita da ovulazione, con la formazione di un corpo luteo accessorio: cosa che raramente avviene nella bovina gravida, a differenza di quanto avviene di norma nella cavalla.

Anche noi abbiamo avuto modo di osservare comportamenti estrali, prima dell'entrata in funzione del pedometro, in bovine già gravide. Questi falsi calori venivano imputati a mutamenti nella nutrizione, soprattutto nel periodo primavera-estate con il passaggio dall'alimentazione con il fieno al foraggio fresco, in particolare con le erbe ricche di leguminose più che di graminacee. È noto infatti che le leguminose, presenti in maggior quantità soprattutto nei foraggi provenienti dal secondo sfalcio, giugno-luglio, contengono fitoestrogeni che inducono un comportamento estrale non solo nelle bovine vuote, ma anche in quelle gravide, con il rischio di aborto, soprattutto nei primi 60 giorni di gestazione.

La rilevazione di un aumento dell'attività motoria, mediante il sistema di controllo informatico, ha maggiormente evidenziato questi segni di estro in modo che il 50-55% circa delle bovine già gravide presentano comportamenti significativi di calore. Si tratta per lo più di segni di estro, non facilmente rilevabili dall'osservazione diretta, in quanto l'aumento dell'attività motoria nella stabulazione libera avviene anche nelle ore notturne e pertanto, se questa motilità non fosse registrata dal computer, passerebbe facilmente inosservata al personale addetto alla mandria. Ciò tenendo conto anche che con le moderne tecnologie di alimentazione e mungitura sono impegnate di norma due sole persone per la gestione di una mandria di 150 bovine.

Considerato il periodo della gestazione in cui abbiamo evidenziato tramite il computer questo aumento della motilità, da 40 a 45 giorni di gestazione, questi segni di falso calore più che dall'alimentazione, che si basa oggi sull'unifeed e sul fieno più che sul foraggio verde, riteniamo siano indotti da altre cause.

Durante i primi 40-45 giorni di gestazione, fase embrionale, la gonade è indifferenziata. Il sesso è già indirizzato geneticamente in maschio o femmina a seconda se la fecondazione è avvenuta con lo spermatozoo y o x; dal punto di vista anatomico, non è possibile evidenziare se la gonade evolverà in testicolo o ovaia.

Una precoce diagnosi di sesso, ancora nella fase di gonade indifferenziata, è stata attuata da Moore e collaboratori (1957). Questi ricercatori hanno accertato, operando in casi di freemartinismo, che il sesso nell'embrione femmina era caratterizzato dalla presenza di cromatina legata al cromosoma X, mentre nel maschio questa sostanza non è presente.

Da tempo è anche noto che la gonade sinistra ha uno sviluppo maggiore (Willier 1921) e che l'embrione maschio ha una maturità ormonale più precoce rispetto alla femmina (Lillie 1917).

In accordo con quanto riportato da Salisbury (1978), abbiamo notato come il livello di estrogeni durante la gravidanza è basso nel primo mese, quindi si ha una leggera risalita alla 5°-6° settimana di gestazione cui segue una modica diminuzione fino al terzo mese. È dal terzo mese che la placenta nella vacca, come in altri mammiferi, inizierà una funzione endocrina di supporto e sostitutiva all'ovaia nella produzione ed equilibrio della concentrazione estrogeni-progesterone fino al parto.

Riteniamo pertanto che la maggior attività motoria, evidenziata dal pedometro a 40-45 dalla inseminazione e che simula un comportamento estrale in molte bovine diagnosticate gravide, possa essere indotta dall'aumento degli estrogeni che caratterizza la fase di trasformazione delle cellule gonadali indifferenziate in testicolo o ovaia.

Il fatto che non tutte le bovine gravide manifestino segni di estro a 40-45 giorni dal concepimento, riteniamo sia dovuto al sesso dell'embrione. L'embrione maschio ha una evoluzione sessuale più precoce rispetto alla femmina (Lillie 1917), pertanto sarebbero gli embrioni maschi che indurrebbero l'innalzamento di estrogeni nel plasma materno.

Questa ipotesi, ancora da confermare, ci è stata suggerita dal fatto che l'esame ecografico a 70-80 giorni di gravidanza, in alcune bovine che avevano presentato falsi calori, ha evidenziato la presenza del tubercolo genitale che caratterizza il feto maschio. La nascita di un vitello maschio, recentemente, ha confermato la diagnosi ecografica di sesso.

In conclusione riteniamo sia necessario un attento esame clinico per differenziare comportamenti estrali conseguenti a una mancata fecondazione o ad un aborto embrionale, da falsi calori in bovine gravide. In questo ultimo caso, dopo un eventuale rapido test per la determinazione del progesterone nel sangue, mediante tecnica ELISA direttamente in azienda, il veterinario valuterà se procedere alla somministrazione di progesterone di sintesi al fine di garantire il buon proseguimento della gravidanza.

#### Ringraziamenti

Si ringraziano il Direttore ed i membri dell'Istituto di Fisiologia Veterinaria dell'Università di Parma per la collaborazione prestata nei dosaggi ormonali.

Parole chiave: vacche da latte, pedometro, gestione informatica nella riproduzione, calori in gravidanza.

Key words: dairy cows, pedometer, computerized management in reproduction, estrum during pregnancy.

Riassunto.La differenziazione sessuale gonadale nell'embrione induce modificazioni ormonali con un incremento degli estrogeni tra la 4° e 5° settimana di gravidanza; ciò fa sì che il 50-55% delle vacche presentino, in questo periodo, un aumento della motilità. Questo comportamento è spesso correlato ad una manifestazione estrale. Il pedometro è un valido strumento per la registrazione di questo comportamento che, ritenuto estro vero e non un falso calore, talvolta può indurre l'allevatore ad una inseminazione artificiale e provocare la morte embrionale precoce e l'aborto. Il pedometro può essere di aiuto all'allevatore ed al veterinario nella gestione dell'allevamento in modo che si possa intervenire in maniera più mirata e corretta nel controllo sanitario e riproduttivo.

Summary.Pedometer in correct management of bovine reproduction: estrus during pregnancy. The sexual differentiation in the cow embryo induced hormonal changes. Estrogens rise to a transient peak during the fifth week of pregnancy: 50-55% cows enter in increased activity. This behaviour is usually indication that the animal is in estrus. Pedometer are available on the market this behaviour, which can be induced, by artificial insemination, to avoid accidental early embryonic death and abortion. Pedometer in reproductive management can be help to farmer and veterinarian to develop a very important role in reproductive examinations.

## BIBLIOGRAFIA

- Betti M. Professione veterinaria: quali competenze per i nuovi profili. *Veterinary Practice in Farms Animals*. 1° Intern. Multicolloquium. Salsomaggiore T.(Pr) 1997. In print.
- Donoho H.R., Rickard H.E. The occurrence of estrus during pregnancy in several Holstein Herds. *J. Dairy Sc.* 38, 6, 602,1955.
- Erb R.E., Morrison R.A. Estrus after conception in a Herd of Holstein Friesian Cattle. *J. Dairy Sc.* 41, 2, 267,1958.
- Lillie F.R. The freemartin; a study of the action of sex hormones in the life of cattle. *J.Expt. Zool.*, 23,371,1917.
- Moore K.L., Graham M.A., Barr M.L. Sex Chromatin in Freemartin. *Anat. Rec.* 118,402,1957.
- Romagnoli S. Il computer come strumento di gestione della riproduzione nell'allevamento bovino. *Atti Soc. It. Buiat.* 90, XXIX,1997.
- Salisbury G.W., Van Demark N.L., Lodge J.R. Physiology of reproduction and artificial insemination of cattle. 142-156, 1978.
- Willier B.H. Structures and homologues of freemartin gonads. *J.Exp.* 33,63,1921.

## LA SUB-INVOLUZIONE DELLE AREE DI INSERZIONE PLACENTARE NELLA CAGNA

### SUBINVOLUTION OF PLACENTAL SITES IN THE BITCH (SIPS)

E. Bigliardi<sup>1</sup>, E. Parmigiani<sup>1</sup>, B. Passeri<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Istituto di Clinica Ostetrica e Ginecologica, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Parma

<sup>2</sup>Istituto di Anatomia Patologica Veterinaria, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Parma

#### Introduzione

Dopo il parto l'utero e le aree di inserzione placentare vanno incontro ad un processo di involuzione che si completa nell'arco di 12 settimane. Normalmente la cagna presenta uno scolo vaginale rosso scuro che nei primi giorni dopo il parto generalmente contiene anche lochiazioni.

Nelle successive 4-6 settimane le perdite vulvari assumono le caratteristiche di scolo misto siero-emorragico per esaurirsi poi completamente.

La sub-involuzione delle aree di inserzione placentare (SIPS) è una condizione patologica che si verifica quando c'è un ritardo, o nei casi più gravi, una mancata regressione dei processi involutivi dell'endometrio.

#### Anamnesi, sintomatologia e diagnosi.

La nostra segnalazione è riferita a tre casi, una femmina di Pastore Belga di due anni e mezzo al primo parto, una femmina Meticcio di tre anni e una Setter Inglese di tre anni e mezzo.

La femmina di pastore belga è stata presentata alla nostra osservazione in quanto dopo 40 giorni dal parto aveva ancora abbondanti perdite vulvari di carattere emorragico. Lo stato generale della cagna era buono, anche se in una prima fase si poteva rilevare un modesto rialzo termico (39°C). La cagna aveva partorito naturalmente 5 cuccioli di cui due erano morti nella prima settimana. Le perdite non erano costanti, anzi venivano definite dal proprietario estremamente variabili in quantità e come distribuzione temporale nella giornata. I parametri di laboratorio quali l'emocromo, la formula leucocitaria e l'esame dell'urina non presentavano nessuna anomalia.

La cagna è stata quindi sottoposta ad indagine ultrasonografica per escludere eventuali segni di endometrite o di piometra dal momento che la cervice uterina era aperta e quindi in contatto con l'ambiente esterno. L'ecografia uterina, ottenuta con l'animale in decubito dorsale con la vescica in buono stato di replezione con sonde ad alta frequenza (7,5 MHz), consentiva di apprezzare le zone di inserzione placentare che apparivano come aree di forma ovale di circa 2 cm di diametro nel contesto dell'utero con pattern ecografici ipo-iperecogeni. Tali strutture sono state classificate come aree placentari in preda a processi di sub-involuzione (foto n°1).



Foto 1- Nell'immagine si può osservare, delimitata dai calipers dell'ecografo, una area ovale di circa 2 cm in un corno uterino.

L'esame ultrasonografico permette inoltre di differenziare eventuali patologie a carico dell'apparato urinario come cistiti emorragiche, calcoli e neoplasie vescicali o altre patologie endometriali che potrebbero essere responsabili delle perdite ematiche vulvari.

Ad un successivo controllo dopo 10 giorni tali aree erano leggermente diminuite di volume, ma sempre apprezzabili (foto n° 2).

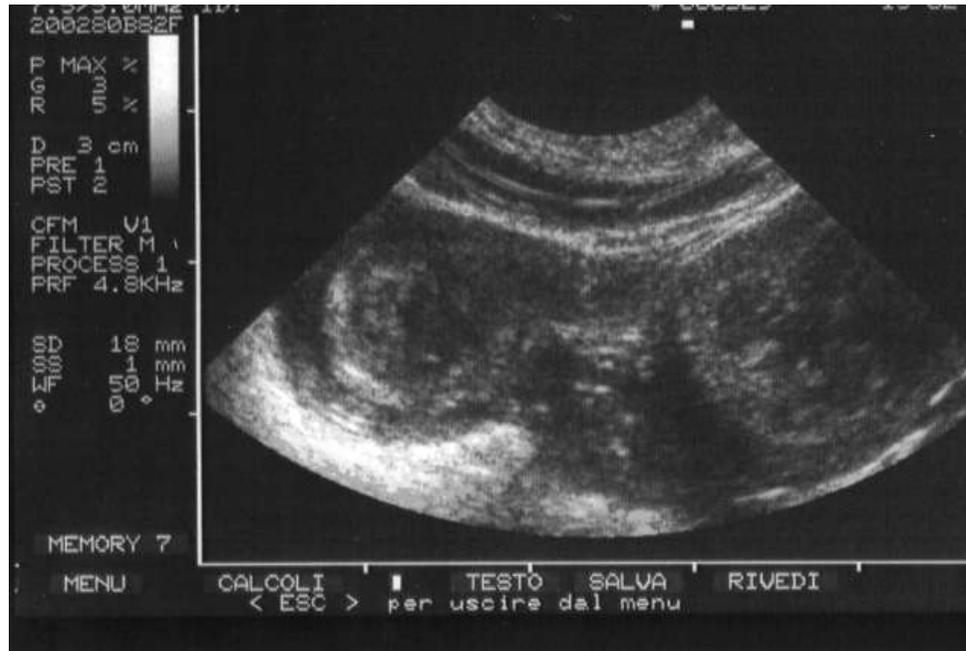


Foto 2- Si possono osservare in scansione trasversale due zone di forma ellittica che rappresentano aree di inserzione placentare non regredite.

Il secondo caso, una femmina Meticcica di tre anni, che aveva partorito da sette settimane, mostrava caratteristiche analoghe al caso precedente, con la differenza che i cuccioli erano tutti vivi e la cagna non presentava alcun sintomo alla visita clinica oltre allo scolo vulvare sieroso-emorragico. Anche in questo caso era possibile con l'esame ultrasonografico valutare diverse aree di forma ovale nel contesto dell'utero con un grado di necrosi meno importante. Nella settimana successiva alla prima visita clinica (8 settimane dopo il parto) la cagna è stata sottoposta ad intervento di isterectomia per l'evoluzione della patologia in una piometra (foto n° 3).

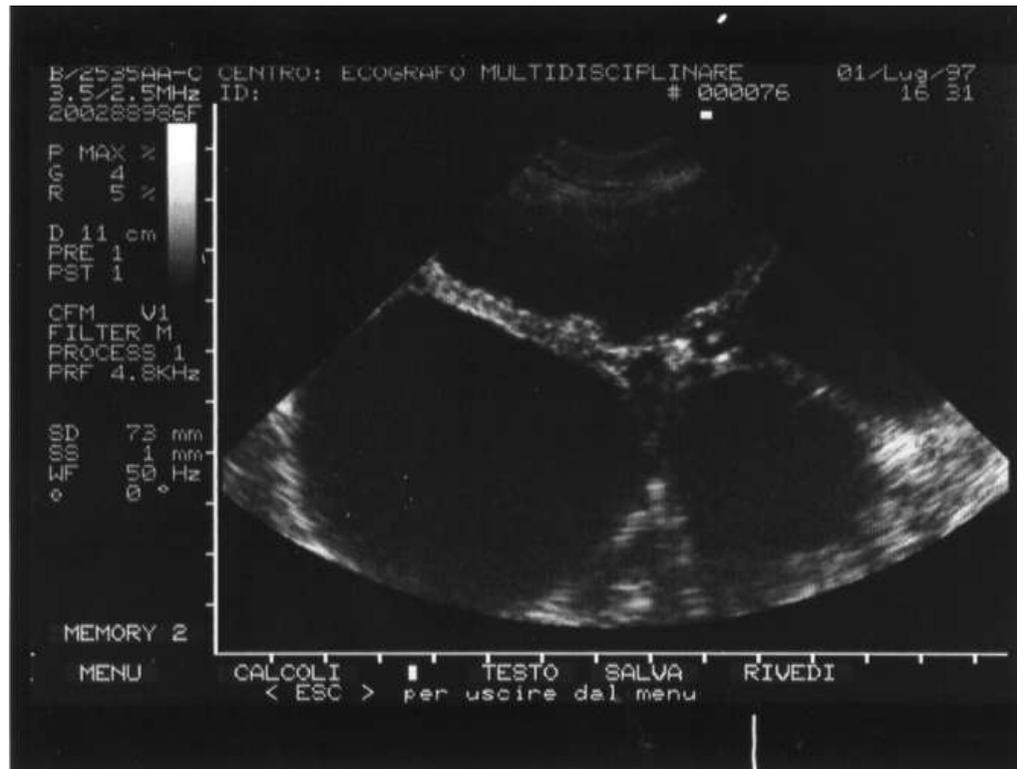


foto 3- Sono evidenti nell'immagine diverse sezioni trasversali delle corna uterine ripiene di essudato; si può notare anche una iperplasia delle mucosa endometriale.

L'ultimo caso, la femmina di razza Setter Inglese, aveva partorito da trenta giorni quattro cuccioli vitali, anche se il parto si era protratto per diverse ore, con un intervallo tra la nascita del primo e dell'ultimo cucciolo di circa 36 ore. Le perdite ematiche vulvari erano abbondanti e per volere del proprietario la cagna dopo 5 settimane dal parto è stata sottoposta ad intervento di ovari-isterectomia.

Nei casi presi in esame i parametri ematici standard, quali l'emocromo e la formula leucocitaria non presentavano anomalie. In alcune cagne è stata notata la comparsa di anemia in conseguenza a perdite vulvari di una certa consistenza; nel nostro caso il proprietario del Pastore Belga riferiva episodi di ematuria anche se tale reperto non veniva confermato dall'esame dell'urina prelevata per cistocentesi addominale.

L'esame citologico vaginale può rivestire un ruolo importante ai fini diagnostici e nel post-partum si ritrovano eritrociti, neutrofili e cellule parabasali. La presenza di cellule con citoplasma schiumoso o cellule trofoblastiche (più raramente reperibili nello striscio vaginale) sono elementi di grande utilità che confermano l'origine delle perdite vulvari.

Nello striscio vaginale della femmina di Pastore Belga erano presenti numerose cellule schiumose che consentivano di convalidare la diagnosi di sub-involuzione placentare (foto n° 4-5).

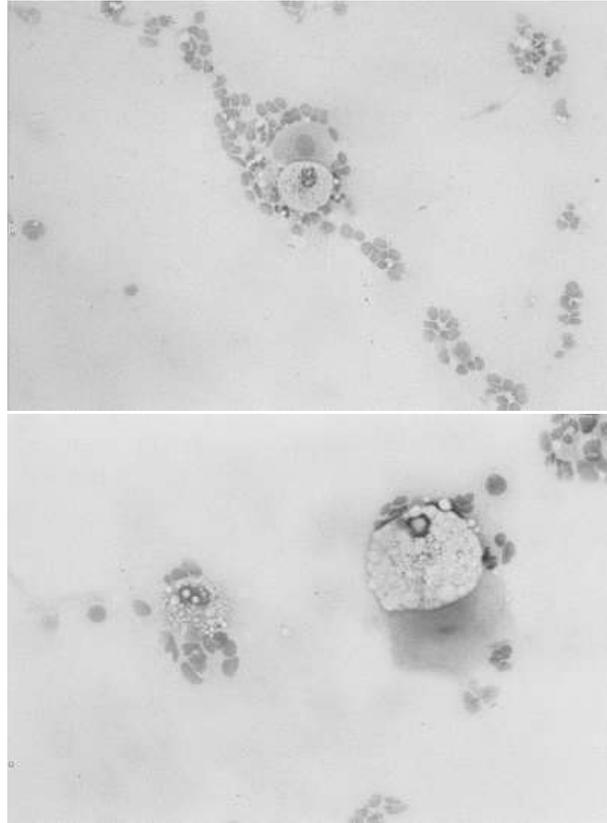


Foto 4-5 - Nello striscio vaginale si possono notare cellule trofoblastiche con citoplasma di aspetto schiumoso oltre ai normali elementi cellulari tipici del post-partum (Papanicolau piccolo e medio ingrandimento).

Con l'esame istologico dell'utero inoltre è stato possibile apprezzare agglomerati di cellule sinciziali con nuclei modificati e con abbondante citoplasma schiumoso e vacuolizzato.

## Terapia

Sono state proposte diverse terapie per il trattamento della SIPS a seconda delle ipotesi eziologiche considerate. Il trattamento a base di progesterone è stato attuato senza peraltro ottenere risultati significativi. Anche l'impiego di ossitocina e dei derivati ergotini hanno fornito esiti contrastanti (Arbeiter K, 1975-Kirk RW e coll., 1968).

Nel caso del Pastore Belga abbiamo effettuato un trattamento con un derivato degli alcaloidi della segale cornuta (Methergin®) e dopo circa tre mesi dal parto si è avuta la remissione della sintomatologia; è importante tuttavia sottolineare che esistono episodi documentati di guarigione spontanea della SIPS (Shell e coll., 1971) e pertanto non è possibile stabilire una reale efficacia della terapia effettuata. In alternativa ai trattamenti farmacologici è stato proposto anche un curettage per via isterotomica, ma è dubbia la necessità (Burke T., 1977).

La terapia elettiva, nel caso in cui la femmina non venga utilizzata come riproduttore rimane la isterectomia, anche per evitare il rischio di una infezione secondaria a livello uterino, come è avvenuto nel secondo caso da noi esaminato, con l'evoluzione della patologia in una piometra.

La copertura antibiotica ad ampio spettro pertanto è indicata qualunque sia la terapia instaurata. È stato osservato inoltre che quando si ottiene la remissione della patologia la cagna non presenta particolari problemi di fertilità e non sembra esserci una maggiore predisposizione a sviluppare una sub-involuzione placentare in una successiva gravidanza (Wheeler S. 1986). La somministrazione dopo il parto (durante le prime 24-48 ore) di sostanze ecboliche, come l'ossitocina o i derivati ergotini, svolgono un ruolo profilattico importante consentendo una più rapida involuzione uterina.

## Discussione e conclusioni

Come riportato da altri autori (Al-Bassan e coll. 1982, Burke e coll., 1977) la mancata regressione delle aree di inserzione placentare è più spesso rilevata nelle cagne giovani al di sotto dei 3 anni, come nei casi segnalati, anche se può presentarsi in cagne di età superiore.

Il processo di involuzione dell'utero, che avviene indipendentemente dalla regressione dei siti placentari, richiede normalmente circa 8-12 settimane per essere completo (Wheeler, 1986).

Le aree di inserzione placentare hanno mediamente un diametro di circa 2 cm e appaiono come rilievi ruvidi a superficie granulata e ricoperte di secrezioni mucose nei primi 10 giorni dopo il parto. Dopo il primo mese tali zone presentano caratteristiche diverse, riducendosi in volume (meno di un cm di diametro) assumendo un colore grigiastro. Le zone di inserzione placentare appaiono successivamente come strette bande di colore chiaro essendosi ormai completata l'involuzione uterina. L'instaurarsi della SIPS sembra essere in relazione alla mancata sostituzione delle masse eosinofile necrotiche da parte della mucosa uterina (Wheeler, 1986). Le cellule trofoblastiche invadono quindi gli strati profondi della mucosa e del miometrio e la superficie delle aree placentari diviene necrotica ed emorragica (foto n° 6).



Foto 6- Nel corno uterino sezionato si osservano diverse zone emorragiche in corrispondenza delle aree placentari necrotiche.

In alcuni casi è stata descritta la presenza di aree mineralizzate nel contesto del tessuto necrotico; occasionalmente è possibile osservare la perforazione del miometrio e della sierosa uterina in seguito alla migrazione profonda delle cellule trofoblastiche (Gleen, 1968) con l'evoluzione della patologia in peritonite di grave entità.

L'esatta eziologia della SIPS non è comunque stata definita, anche se il meccanismo esposto sembra essere il più accreditato. Alcuni autori hanno ipotizzato che la risposta dell'utero al progesterone possa essere chiamata in causa nella evoluzione della patologia; inoltre la fragilità dei capillari indotta dalla stimolazione estrogenica sembra interferire con i processi riparativi. Valutazioni del tasso ematico degli estrogeni in cagne affette da SIPS non hanno però confermato tale ipotesi dal momento che le concentrazioni ormonali rientravano nel "range" di normalità. D'altra parte il fatto che si possano riscontrare nello stesso utero siti di involuzione placentare con aree in cui la regressione è avvenuta regolarmente non sembrano giustificare l'ipotesi su base ormonale segnalata.

La sub-involuzione dei siti di inserzione placentare nella cagna (SIPS) rappresenta pertanto una evenienza che va attentamente valutata quando le perdite vulvari siero-emorragiche persistono oltre le 4 settimane dopo il parto. Nel caso in cui la cagna non riveste un particolare interesse dal punto di vista riproduttivo è consigliabile eseguire l'ovario-isterectomia per evitare di incorrere in problemi più gravi come la perforazione uterina complicata da peritonite di grave entità. Nel caso invece di riproduttori di pregio una adeguata copertura antibiotica e un monitoraggio delle condizioni generali dell'animale, con il determinante ausilio di eventuali esami strumentali come l'ecografia, può consentire di verificare con un buon margine di sicurezza se avviene una involuzione spontanea della SIPS, con il ripristino delle condizioni favorevoli ad una successiva gravidanza, oppure se diventa necessario intervenire chirurgicamente.

Parole chiave: cagna, aree di inserzione placentare, utero.

Key words: bitch, placental sites, uterus.

Riassunto. Nella cagna dopo il parto l'utero e le aree di inserzione placentare vanno incontro ad un processo di involuzione fisiologico che richiede mediamente otto settimane. In alcuni casi si assiste ad un ritardo nella regressione delle aree di inserzione placentare che si manifesta con perdite emetiche vulvari persistenti. L'endometrio va incontro a fenomeni necrotici che possono anche esitare in perforazioni uterine nei casi più gravi.

L'esame ultrasonografico consente di verificare il grado di involuzione dell'utero e delle aree di inserzione placentare quando dopo il parto persistono le perdite ematiche.

Gli autori sottolineano inoltre la possibilità di monitorare l'evoluzione della patologia attraverso ripetuti controlli ecografici nel caso in cui si instauri una terapia farmacologica anziché chirurgica.

Summary. In the bitch after delivery the uterus and placental sites have a physiological regression in 8 week. In several cases occurs a sub-involution of placental sites with a blood vulvar

discharge. In the endometrium there are syncytial masses of cells with cytoplasm vacuolate that sometime invade the myometrium and perforate the serosa. The ultrasonographic examination allows to verify the uterine involution and placental sites when after delivery the bloody vulvar discharge is persistent. The authors underline the possibility to follow step by step the disease evolution by echographic check when is done a medical therapy rather than surgery.

## BIBLIOGRAFIA

- Al-Bassan MA, Thompson RG, O'Donnell L.: Involution abnormalities in the postpartum uterus of the bitch. *Vet. Pathol.* 1982, 18:208.
- Al-Bassan MA, Thompson RG, O'Donnell L.: Normal postpartum involution of the uterus in the dog.. *Can J Comp. Med.* 1981, 45:217.
- Arbeteir K.: The use of progestins in the treatment of persistent uterine hemorrhage in the postpartum bitch and cow: A clinical report. *Theriogenology* 1975,4:11.
- Burke T.J.: Post-parturient problems in the bitch. *Vet Clin. North Am.* 1977, 7:693.
- Durfee P.T.: Surgical treatment of postparturient metritis in the bitch. *J.A.V.M.A.* 1968,153:40.
- Gleen B.L.: Subinvolution of placental sites in the bitch. Guelph, Ontario, Gaines Vet. Symp. October 9, 1968.
- Kirk RW, Mc Entee K., Bentinck-Smith J.: Diseases of the urogenital system. In Catcott EJ (ed): *Canine Medicine*. Wheaton,American Veterinary Publication, 1968,404.
- Mosier J.E.: Disorders in the post-parturient bitch. *Current Therapy in Theriogenology*. W.B. Saunders Co. 1980.
- Nje SS.: Even areas of uterine necrosis following parturition in the bitch. *Vet Rec* 1950, 62:118.
- Reid J.S., Frank R.J.: Double contrast in Hysteroqram in the diagnosis of retained placentae in the bitch: A case report. *J.A.V.M.A.* 1973,9:367.
- Shall Wd, Duncan JR, Finco OR, Knecht CD.: Spontaneous recovery after subinvolution of placental sites in a bitch. 1971. *J.A.V.M.A.* 1971, 159:1780.
- Wheleer Steven L.: Subinvolution of placental sites in the bitch. *Current Therapy in Theriogenology*. W.B. Saunders Co. 1986, 513.

# COMPLICANZE DIABETICHE DA CAUSE GINECOLOGICHE NELLA CAGNA

Bigliardi E.<sup>1</sup>, Parmigiani E.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Istituto di Clinica Ostetrica e Ginecologica, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Parma*

## Introduzione

In alcuni studi sperimentali è stato osservato che nei cani sottoposti a trattamenti prolungati con dosi farmacologiche di progestinici (Clormadione acetato, medrossiprogesterone acetato) si sviluppa una condizione diabetica spesso associata ad acromegalia difficilmente controllabile con la somministrazione di insulina.

L'azione diabetogena indiretta di tali sostanze risulta di notevole importanza in quanto ° trovano comune impiego nel controllo dell'estro nella cagna e nella gatta; anche la produzione endogena di progesterone può in alcune condizioni determinare stati transitori di iperglicemia.

Nel presente lavoro si prendono in esame le principali complicanze diabetiche e in particolare quelle legate a patologie dell'apparato riproduttore della cagna e si segnala un caso clinico di una femmina di razza Samoiedo con patologia ovarica cistica in cui era presente una condizione iperglicemica non controllabile con l'insulina.

## Diabete mellito e fattori diabetogeni

Nel cane non esiste una classificazione delle varie forme di diabete anche se sono stati proposti dei parallelismi con quelle identificate nella specie umana. Le forme di diabete mellito associate ad iperglicemia e ipoinsulinemia sono state assimilate al tipo I dell'uomo; si riscontrano tuttavia anche quadri con iperglicemia e concentrazioni di insulina normali o più elevate.

In uno studio del 1978 (Kaneko e coll.) in cui sono stati osservati 22 cani diabetici, in base ai tassi glicemici ed insulinici sono stati classificati in tre gruppi principali. Un primo gruppo aveva caratteristiche simili al tipo I dell'uomo con insulino-dipendenza, un secondo gruppo non strettamente dipendente dall'insulina e per questo assimilabile al tipo II e infine un terzo gruppo con aspetti di diabete "latente". Queste diverse forme trovate nel cane rappresentano probabilmente quadri evolutivi del diabete mellito spontaneo. Tuttavia nell'uomo il controllo delle forme di tipo II si esplica con un regime dietetico adeguato e il dimagrimento del soggetto; nel cane invece, anche se obeso, lo stato di iperglicemia risponde alla somministrazione di insulina, piuttosto che alla dieta e agli ipoglicemizzanti orali, evolvendo spesso verso la chetosi. Inoltre nel cane l'insorgenza della malattia (assimilabile al tipo I dell'uomo) si osserva in età adulta o nell'animale anziano.

Tali classificazioni rispondono più ad una esigenza accademica che ad una reale utilità; da un punto di vista clinico è sicuramente più vantaggioso stabilire un criterio per differenziare il diabete primario, di tipo I o II, dal diabete indotto da altre condizioni come ad esempio alcune endocrinopatie come il morbo di Cushing o dalla somministrazione di sostanze "diabetogene" come i glicocorticoidi, l'eccesso di progesterone, di adrenalina, di glucagone e di ormone somatotropo. Tali condizioni sono in grado di produrre quadri di insulino-resistenza, condizione che si instaura quando si hanno stati iperglicemici superiori ai 300 mg/dl difficilmente controllabili anche con somministrazioni elevate di insulina esogena.

I meccanismi che determinano la mancata attività dell'insulina si possono realizzare in vari stadi a partire dall'interazione tra l'ormone e il suo recettore, dal loro legame o dagli eventi che avvengono prima del contatto tra recettore e ormone.

Nel caso di alterazioni della concentrazione dell'insulina possono essere chiamati in causa i fattori che riducono la quantità di insulina attiva, le anomalie della molecola ormonale e la produzione di anticorpi verso l'insulina esogena.

E' stata segnalata una correlazione elevata tra l'insorgenza del diabete mellito e l'uso di alcune sostanze farmacologiche. Tra i farmaci di impiego comune risultano coinvolti i glicocorticoidi e i progestinici. Il diabete da steroidi si osserva più spesso quando vengono somministrati per via sistemica piuttosto che per applicazione topica. ( Ettinger S.J., 1988).

Anche l'iperadrenocorticismo nel cane è una causa piuttosto comune di diabete mellito resistente alla somministrazione di insulina; i glicocorticoidi infatti deprimono l'utilizzazione periferica del glucosio, favoriscono la gluconeogenesi epatica e interferiscono in senso negativo sul legame insulina-recettore. Inoltre la maggior incidenza di infezioni renali che si riscontra nel morbo di Cushing potenzia tale effetto.

Per quanto riguarda il progesterone nel cane sono stati evidenziati quadri diabetici ed acromegalia durante terapie a base di progestinici; inoltre è stato osservato come la somministrazione prolungata di medrossiprogesterone acetato (MPA) determina aumenti dei livelli sierici di ormone somatotropo (GH) ed acromegalia. I progestinici inoltre hanno attività intrinseca glicocorticoide, soprattutto nel gatto, nel quale possono creare condizioni diabetiche (Neuman, 1978).

L'azione principale con la quale i progestinici intervengono nell'insulino-resistenza del cane sembra essere l'incremento della secrezione di ormone somatotropo, del quale è nota la potente azione diabetogena (Pierluzzi e Campbell, 1990), da cui deriva un aumento delle masse corporee, degli spazi interdentali e iperglicemia. Nel cane tale condizione sembra essere spesso progesterone-dipendente (Feldman).

In alcuni casi di acromegalia la somministrazione di dosi di insulina dalle 30 alle 130 UI ha determinato decrementi molto modesti della glicemia (Ihle e Nelson, Veterinaria 1993).

L'utilizzazione di medrossiprogesterone acetato (MPA) per il controllo dell'estro può favorire nella cagna la manifestazione di condizioni diabetiche latenti; è stato dimostrato (Eingenman, 1981) che la somministrazione di MPA in cagne ovarioisterectomizzate, trattate precedentemente con impianti sottocutanei di estrogeni, determinava incrementi di GH. Il ruolo svolto dagli estrogeni è di potenziamento dell'azione del progesterone; infatti i livelli di GH riscontrati in cagne ovarioisterectomizzate trattate solo con MPA erano da tre a cinque volte inferiori rispetto a quelli ritrovati nei soggetti trattati anche con estrogeni. L'aumento dell'ormone somatotropo determina una diminuzione del numero dei recettori per l'insulina a livello delle membrane cellulari e interferisce con il legame ormone-recettore. L'effetto che ne deriva è uno stato di iperglicemia difficilmente controllabile con la somministrazione di insulina esogena.

Un altro fattore diabetogeno conosciuto è rappresentato dal glucagone che esplica azione iperglicemizzante intervenendo sul legame tra l'insulina e il suo recettore (Ganog, 1981) quando viene secreto in eccesso in seguito ad esempio a quadri uremici, nel corso di malattie batteriche, insufficienza renale e patologie neoplastiche del tratto gastroenterico.

Nell'uomo sono note alcune neoplasie secernenti glucagone che nel cane non hanno ancora trovato riscontro.

In alcuni studi (Chang, 1983) è stata documentata una correlazione significativa tra i livelli plasmatici di testosterone, androstenedione e iperinsulinemia in donne affette da patologie ovariche policistiche e resistenza all'insulina senza che fosse presente obesità, anticorpi verso l'insulina e acanthosis nigricans. Il meccanismo che sta alla base della azione degli androgeni nell'insulino-resistenza non è conosciuto.

Una altra causa importante, anche se non particolarmente diffusa, che determina una mancata risposta alla somministrazione dell'ormone è rappresentata dalla produzione di anticorpi verso l'insulina esogena. L'insulina è costituita da una proteina eterologa e pertanto in grado di evocare da parte dell'animale ospite una reazione di tipo immunitario. La risposta anticorpale è solitamente più elevata nei cani diabetici trattati con insulina bovina/suina rispetto a quelli che ricevono insulina di esclusiva derivazione suina.

Tuttavia, anche se dal punto di vista immunologico è giustificata tale possibilità, i casi segnalati sono molto ridotti. (Feldman 1992)

#### **Comparazione tra le reazioni anticorpali evocate da insulina suina e bovina-suina nel cane diabetico**

<b>Capacità legante (%) l'insulina suina marcata (<sup>125</sup>I)</b>	
Cani normali	0,6
Cani diabetici (n=25) insulina suina	1,9
	(p=NS)
<b>Capacità legante (%) l'insulina bovina marcata (<sup>125</sup>I)</b>	
Cani normali	0,4
Cani diabetici (n=18) insulina bovina	4,8
	(p<0,001)
<b>Cani diabetici trattati con miscela di insulina bovina-suina (n=5) percentuale media di legame con:</b>	
Insulina <sup>125</sup> I suina	0,7
Cani normali	0,6
	(p=NS)
Insulina <sup>125</sup> I bovina	3,3
Cani normali	0,4
	(0,005<p<0,01)

Da Feldman EC, Nelson RW "Endocrinologia e Riproduzione nel cane e nel gatto", 1992.

## Epidemiologia

Vari studi hanno evidenziato che l'età in cui si ha la maggior incidenza della patologia diabetica è compresa tra i 4 e i quattordici anni con una frequenza più elevata per gli animali attorno agli 8 anni; il riscontro di forme diabetiche nei cuccioli è un reperto raro. Le femmine sono interessate dalla malattia con una frequenza doppia rispetto ai maschi, inoltre la fase di estrus nella cagna è un momento particolare in cui la secrezione endogena di progesterone influisce in modo negativo sulla tolleranza al glucosio. Sembra esistere anche una predisposizione di razza in cui i Bassotti, i Barboni e i Pinscher nani sono i più soggetti a sviluppare una condizione diabetica, mentre il Cocker Spaniel, il Pastore Tedesco e il Boxer rientrano nelle razze a rischio relativamente ridotto.

## Diagnosi

L'anamnesi dei soggetti diabetici richiede una attenta valutazione al fine di evidenziare i segni classici della malattia come la polidipsia, la poliuria, la polifagia e nei casi complicati da chetoacidosi e non sottoposti a trattamento la perdita di peso che si realizza tuttavia lentamente. Inoltre l'anamnesi consente di verificare se sussiste una potenziale complicazione dovuta alla somministrazione di farmaci come i glicocorticoidi, i progestinici, oppure se sono presenti altre patologie concomitanti come pancreatiti, disendocrinie, patologie cardiache con scompenso congestizio.

All'esame obiettivo spesso nella fase iniziale della malattia i soggetti sono generalmente in buone condizioni fisiche anche se con tendenza all'obesità; negli animali non trattati si va incontro invece ad una patologia a carattere sistemico complicata da chetoacidosi metabolica con perdita di peso in seguito alla mancata utilizzazione periferica del glucosio e al catabolismo proteico e del tessuto adiposo; la steatosi epatica e l'epatomegalia sono la conseguenza della mobilizzazione secondaria dei grassi di deposito e allo squilibrio metabolico. Nel cane anziano è piuttosto comune osservare anche la presenza di cataratta bilaterale.

Il sospetto di diabete viene generalmente emesso ogni volta che l'animale presenta poliuria, polidipsia e polifagia. La conferma diagnostica si ottiene dal monitoraggio della glicemia a digiuno che nel cane normale oscilla tra 70 e 110 mg/dl, il riscontro di valori costantemente superiori a 150 mg/dl è considerato significativo nel diabete conclamato. Lo stress può indurre stati transitori di iperglicemia e per questo è importante valutare la glicemia con una serie di prelievi nell'arco delle ventiquattro ore.

L'esecuzione del test di tolleranza ai carboidrati nel caso di diabete conclamato non è necessario, mentre nel caso di situazioni non ben definite con valori della glicemia inferiori alla soglia renale (<180 mg/dl) può essere indicata l'esecuzione, anche se l'uso di farmaci e la dieta del soggetto possono influenzare il risultato del test.

I fattori diabetogeni citati devono essere attentamente valutati come elementi in grado di determinare quadri di resistenza all'insulina in cui si osserva una maggiore difficoltà a mantenere la glicemia entro livelli accettabili come si verifica ad esempio con una certa frequenza nella cagna diabetica nella fase di estrus.

Gli esami di laboratorio come l'emocromo, i parametri di funzionalità renale (creatinina e BUN) e il profilo epatico sono importanti nel valutare la condizione diabetica. Negli animali non trattati si riscontra comunemente iperdipidemia in seguito alla mancata attivazione dell'enzima lipoproteinelipasi dovuta alla carenza di insulina; l'infiltrazione adiposa che ne segue determina un aumento delle transaminasi e della fosfatasi alcalina. Anche l'analisi dell'urina riveste un ruolo diagnostico importante attraverso la determinazione della glicosuria e della chetonuria nei casi di diabete complicato da chetoacidosi; in associazione a tali reperti si possono osservare proteinuria e segni di infezione a carico dell'apparato urinario.

Per meglio chiarire l'iter diagnostico ci sembra interessante segnalare un caso clinico di una cagna in cui era presente una condizione diabetica complicata da resistenza all'insulina per problemi relativi all'apparato riproduttore.

## Caso clinico

Il caso che si vuole segnalare è rappresentato da una femmina di razza Samoiedo di 8 anni con apparato riproduttore integro.

Il soggetto alla visita clinica non presentava, all'esame obiettivo generale, alterazioni particolari; lo stato di nutrizione era buono con un lieve sovrappeso e non si riscontravano segni di acromegalia. L'anamnesi rivelava la presenza di una forma diabetica difficilmente controllabile con poliuria e polidipsia marcata. I tassi glicemici superavano i 300 mg/dl nonostante la somministrazione di elevate dosi di insulina (>2 UI/Kg di peso corporeo). L'emocromo rientrava nella norma mentre si osservava un aumento della concentrazione sierica di GOT, GPT e della fosfatasi alcalina, probabilmente in seguito a fenomeni di steatosi epatica conseguente al catabolismo del tessuto adiposo. Si notava inoltre un aumento della colesterolemia (230 mg/dl). Il profilo renale (creatinina e azotemia) rientrava nella norma, mentre era presente glicosuria e chetonuria in piccole tracce.

**ESAME EMOCROMOCITOMETRICO**

Globuli rossi/mm <sup>3</sup>	6.750.000
Globuli bianchi/mm <sup>3</sup>	15.100
Emoglobina gr/dl	15,3
HCT %	45,8
MCVm <sup>3</sup>	67,9
MCHC %	33,6

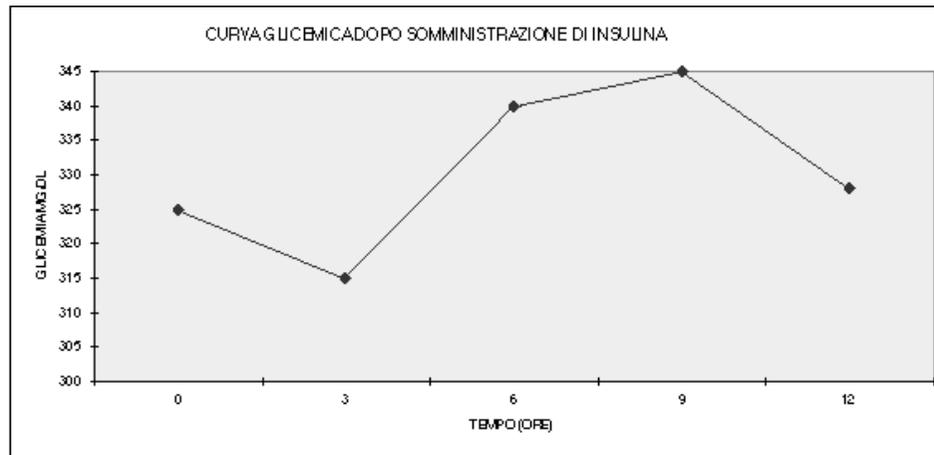
**FORMULA LEUCOCITARIA**

Granulociti neutrofil	78%
Granulociti eosinofili	-
Granulociti basofili	-
Linfociti	21%
Monociti	1%
Cellule immature	-

**PARAMETRI DI LABORATORIO**

Bilirubina Tot. mg/dl	0,04
GOT U/I	50
GPT U/I	60
γ-GT U/I	8
Glucosio mg/dl	320
Urea mg/dl	30
Creatinina mg/dl	1,4
Fosfatasi alcalina	130
Proteine Tot. g/dl	7
Colesterolo Tot. mg/dl	230

Si riscontrava, inoltre, una ipertrofia della vulva e la cagna aveva calori irregolari e ravvicinati (tre volte nell'ultimo anno). Il soggetto era in terapia con medrossiprogesterone acetato alla dose di 150 mg di preparato deposito una volta al mese.



La prima ipotesi formulata fu quella di una errata somministrazione dell'insulina o falsi aumenti della glicemia in parte dovuti a manovre stressanti legate al prelievo ematico. E' stata pertanto monitorata la glicemia basale e nel corso delle 12 ore seguenti la somministrazione di una dose insulinica di 2 U/kg mediante quattro prelievi distanziati di tre ore l'uno dall'altro. La figura 1 mostra la curva della glicemia in cui si nota un calo dopo cinque ore dalla somministrazione dell'insulina senza però ottenere un controllo soddisfacente della glicemia che rimaneva sempre superiore a 300 mg/dl. L'animale è stato sottoposto anche ad indagine ultrasonografica per valutare lo stato dell'apparato riproduttore dal momento che presentava cicli estrali irregolari e prolungati. Il progesterone e gli estrogeni, infatti, con meccanismi diversi sono in grado di influenzare negativamente la tolleranza al glucosio, come dimostrato dalla comparsa di episodi di iperglicemia nella fase diestrone della cagna non ovariectomizzata. L'esame ecografico è stato eseguito previa tricotomia dell'addome e l'applicazione di gel per ultrasuoni, al fine di ottenere un buon contatto tra cute e trasduttore e

consentiva di evidenziare alcune strutture cistiche a carico di entrambe le ovaie. Come si nota nelle immagini ecografiche (fig.2-3) le formazioni cistiche, anecogene, occupavano tutta la struttura ovarica in posizione caudale rispetto al rene corrispondente.

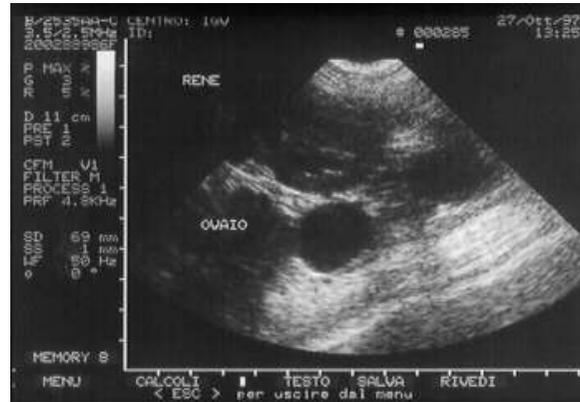


Fig.2 - Nella immagine ecografica si nota l'ovaio sinistro in cui si rilevano alcune formazioni cistiche a contenuto liquido

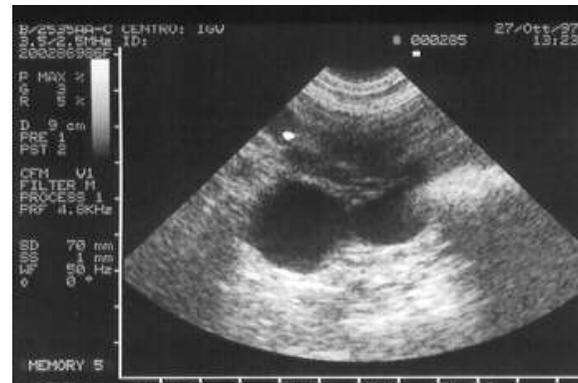


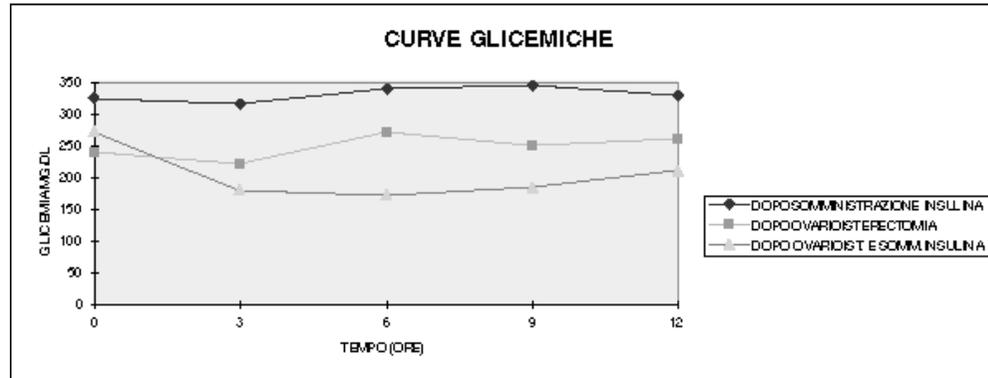
Fig.3 - Immagine ecografica dell'ovaio destro. Si possono osservare due strutture cistiche anecogene che interessano tutto l'ovaio.

L'utero non mostrava segni di alterazioni particolari. Il dosaggio ematico degli estrogeni si discostava dai livelli basali senza però raggiungere concentrazioni particolarmente elevate (10 pg/ml), mentre il progesterone si poneva su livelli di circa 20 ng.

## Terapia

Nel cane il trattamento del diabete con gli ipoglicemizzanti orali non trova impiego comune in quanto si osserva generalmente una riduzione della concentrazione ematica dell'insulina che rende necessaria la somministrazione esogena dell'ormone. E' importante tuttavia tenere presente i fattori diabetogeni prima citati che influiscono negativamente sulla tolleranza al glucosio per evitare che la terapia insulinica anche in dosi elevate non sia in grado di controllare la glicemia. Nel caso segnalato è stato infatti necessario sottoporre la cagna ad ovariostereotomia in quanto l'elevata somministrazione di MPA associata alla patologia ovarica cistica aveva complicato una condizione diabetica preesistente con un fenomeno di resistenza all'insulina. Dopo 15 giorni è stato nuovamente eseguito un monitoraggio della glicemia che si assestava ,

senza la somministrazione di insulina, attorno ai 200 mg/dl. La glicemia risultava in seguito controllabile con dosi di insulina lenta di 0,5-1 UI/Kg di peso corporeo al di (fig.4).



Il tipo di insulina più utilizzato nel cane è l'insulina NPH che inizia a manifestare la sua azione dopo 1-3 ore dall'inoculazione sottocutanea con un picco ematico dopo 5 ore e con una durata di circa 12-24 ore. E' importante che l'insulina sia ben conservata al riparo dalla luce e da brusche variazioni di temperatura. Nel cane la dose iniziale varia da 0,5-1 UI/kg di peso corporeo per via sottocutanea; è opportuno inoltre iniziare il trattamento con bassi dosaggi dal momento che è più facile gestire uno stato iperglicemico piuttosto che una crisi ipoglicemica acuta.

Durante la fase iniziale del trattamento è necessario valutare la risposta alla somministrazione di insulina attraverso determinazioni seriali della glicemia con prelievi ematici distanziati di 2-3 ore nell'arco della giornata per adeguare la dose di insulina alla risposta del soggetto. Sono state proposte diverse modalità di trattamento in cui l'insulina viene somministrata al mattino prima di fornire all'animale il 10-25% della razione giornaliera; la restante parte di alimento viene poi distribuita dopo 5-10 ore in modo da sovrapporsi al picco insulinemico ed evitare così crisi di ipoglicemia; una volta stabilizzato il paziente il pasto può essere somministrato in un'unica soluzione alla sera.

## Discussione e conclusioni

Negli animali con diabete mellito manifesto, in cui la glicemia persiste oltre i 300 mg/dl anche con il trattamento a base di insulina, è necessario seguire un protocollo diagnostico differenziale in cui si valutano oltre alla dose di insulina, il tipo utilizzato, la frequenza di somministrazione, l'aumento della glicemia in seguito a manovre stressanti (per questo è importante monitorare la glicemia possibilmente nelle 24 ore), anche le cause che possono essere implicate nei casi di insulino-resistenza. Nel cane diabetico la glicemia è solitamente controllata con dosaggi di circa 1,0 UI di insulina a durata d'azione intermedia (due volte al di) o protratta (una volta al di).

Nel caso di una cagna non ovarioisterezomizzata il sospetto di resistenza all'insulina deve essere sempre tenuto in considerazione tanto più se la cagna è in fase di estrale o in terapia con progestinici. La presenza di cisti follicolari nel caso clinico esaminato conferma come la stimolazione estrogenica determini un aumento della concentrazione dei recettori per il progesterone in alcuni distretti dell'organismo in accordo con le indagini svolte da Eingenman e Rijnberk (1981) in cui in cagne ovarioisterezomizzate la somministrazione di MPA senza la precedente stimolazione estrogenica determinava aumenti modesti di ormone somatotropo. Tutto ciò sembra avvalorare l'ipotesi che gli estrogeni esplicano un ruolo di potenziamento nella sovrapproduzione di GH.

Nella cagna gravida, che presenta elevati livelli di progesterone e concentrazioni basali di estrogeni, è un reperto occasionale il riscontro di aumenti significativi di GH. Nella donna con patologia ovarica policistica si è notata una correlazione positiva tra il livello degli androgeni e l'aumento della concentrazione ematica di ormone somatotropo in corso di insulino-resistenza; inoltre è stato trovato un analogo comportamento del GH in donne che assumevano combinazioni di estrogeni e progestinici (Spellacy, 1967), mentre la sola assunzione di progesterone non provocava cambiamenti importanti sulla secrezione di ormone somatotropo (Spellacy, 1972). Nel nostro caso non è stato possibile eseguire un controllo sui tassi di testosterone ed androstenedione. L'elevata correlazione tra i livelli di progesterone e le concentrazioni di GH riscontrata negli animali trattati sperimentalmente con MPA, associati a segni di acromegalia sono condizioni che si realizzano quasi esclusivamente in seguito all'impiego di progesterone esogeno in dosi molto elevate e certamente non terapeutiche. Nell'animale da noi esaminato il dosaggio di MPA utilizzato era elevato e somministrato con un intervallo troppo frequente (150 mg di preparato depositato una volta al mese). Quantità fisiologiche di progesterone raramente provocano aumenti di GH tali da determinare acromegalia (Concannon e coll. 1980) e in alcuni casi si è notata addirittura una diminuzione di ormone somatotropo in risposta al progesterone che farebbe pensare ad una regolazione del GH da parte del progesterone.

Nel caso specifico, il controllo della sintomatologia diabetica e della resistenza all'insulina, in seguito all'ovarioisterezomia, mostra come il progesterone esogeno ed endogeno fosse importante nel mantenere una condizione di iperglicemia difficilmente controllabile.

Ne deriva che si possono riscontrare effettivamente condizioni diabetiche legate alla somministrazione esogena di progestinici di sintesi e alla secrezione fisiologica di progesterone, come ad esempio nella fase diestrane della cagna in corso di diabete latente, attraverso una alterazione dei livelli di ormone somatotropo. Emerge inoltre come la stimolazione estrogenica riveste un ruolo non trascurabile nella fase iniziale della insulino-resistenza indotta dal progesterone anche se non è del tutto chiarito il ruolo rivestito da ciascun ormone. Si sottolinea inoltre l'utilità dell'esame ultrasonografico per una corretta valutazione dell'apparato riproduttore della cagna.

**Riassunto.** La resistenza alla insulina è una condizione che si può sviluppare in seguito alla interazione di alcuni fattori come ad esempio reazioni anticorpali verso l'insulina esogena, l'aumento dell'ormone somatotropo, l'utilizzazione di glicocorticoidi e di progestinici come il medrossiprogesterone acetato (MPA). Nella cagna studi sperimentali hanno dimostrato che trattamenti con MPA dopo la somministrazione di estrogeni determina aumenti dell'ormone somatotropo che possono creare condizioni di insulino-resistenza.

Nel presente lavoro si segnala il caso di una cagna trattata con medrossiprogesterone acetato in cui era presente una forma diabetica non controllabile con la somministrazione di insulina esogena.

Si sottolinea inoltre l'importanza dell'esame ultrasonografico nella diagnosi delle patologie ovariche nella cagna.

**Summary.** The insulin resistance is a condition that appears after interaction of several factor as antibody reaction against insulin, the increase of growth hormone, serum cortisol and the use of progestagens as medroxyprogesterone acetate (MPA). In the bitch, experimental studies have shown that the treatment with MPA after the administration of estrogens causes increases of growth hormone (GH) that produce insulin resistance. In this study the authors show the utility of ultrasonography for the diagnosis of the polycystic ovarian disease in the bitch.

**Parole chiave:** insulina, medrossiprogesterone acetato, estrogeni, ormone somatotropo, cagna, ultrasonografia.

**Key word:** insulin, medroxyprogesterone, estrogen, growth hormone, bitch, ultrasonography.

## BIBLIOGRAFIA

- Change RJ, Nakamura RM, Judd HL, et al.: insulin resistance in nonobese patients with polycystic ovarian disease. *J Clin Endocrinol Metab* 57:335-359, 1983.
- Church DB: The blood glucose response to three prolonged duration insulins in canine diabetes mellitus. *J Small Anim Pract* 22:301-310, 1981.
- Concannon P., Altszuler N., Hampshire J., Butler WR., Hansel W.: Growth hormone, prolactin and cortisol in dogs developing mammary nodules and an acromegaly-like appearance during treatment with medroxyprogesterone acetate. *Endocrinology* 106, 1173-1177, 1980.
- Eingenman JE, Wortman JA, Haskins ME: Elevated growth hormone levels and diabetes mellitus in a cat with acromegalic features. *JAAHA* 20:747-752, 1984.
- Eingenman JE, Venker-van Haagen AJ: Progestagen-induced and spontaneous canine acromegaly due to reversible growth hormone overproduction: Clinical picture and pathogenesis. *JAAHA* 17:813-822, 1981.
- Eingenman JR: Diabetes mellitus in elderly female dogs: Recent findings on pathogenesis and clinical implications. *JAAHA* 17:805-812, 1981.
- Eingenman JE, Eingenman RY, Rijnberk Ad, Gaag I, Zapf J, Froesch ER.: Progesterone-controlled growth hormone overproduction and naturally occurring canine diabetes and acromegaly. *Acta Endocrinologica* 104:167-176, 1983.
- Eingenman JE, Rijnberk A.: Influence of medroxyprogesterone acetate (Provera) on plasma growth hormone levels and on carbohydrate metabolism. I studies in the ovariohysterectomized bitch. *Acta Endocrinologica* 98:599-602, 1981.
- Eingenman JE, Rijnberk A.: Influence of medroxyprogesterone acetate (Provera) on plasma growth hormone levels and on carbohydrate metabolism. II studies in the ovariohysterectomized bitch. *Acta Endocrinologica* 98:603-608, 1981.
- Ettinger S.J.: Trattato di Medicina Interna Veterinaria, Edizioni SBM, Parma, 1988.
- Feldman EC., Nelson RW: Endocrinologia e riproduzione del cane e del gatto. Utet 269-310, 1992.
- Ganong WF: Review of Medical Physiology 10 th ed Altos, CA, Lange Medical Publication, 1981.
- Ihle SL, Nelson RW.: Insulinresistenza e diabete mellito. *Veterinaria* 2:83-91, 1993.
- Neuman F: The physiological editio of progesterone and the pharmacological effects of progestagens- a short review. *Postgrad Med J* 54 (suppl 2) 11-24, 1978.
- Peterson ME, Nsbitt GH, Schaer M.: Diagnosis and managementof concurrent diabetes mellitus and hyperadrenocorticism in 30 dogs. *JAVMA* 1787:66-69, 1986.
- Pierluzzi J, Campell J: Metasomatotropic diabetes and its induction: basal insulin secretion and insulin release response to glucose, glucagon, arginine and meals. *Diabetologia* 18: 223--238, 1980.
- Pukay BP: A hyperglycemia-glicosuria syndrome in cats following megestrol acetate therapy. *Can Vet J* 20:117, 1979.
- Sloan JM, Oliver IM.: Progestagen-induced diabetes in the dog. *Diabetes* 24:337-344, 1975.

# Zannetti, Ubaldi, Fusari, Cristini, Lazzarelli. INTOSSICAZIONE IATROGENA DA RAME NELLA PECORA

Zannetti G.<sup>1</sup>, Ubaldi A.<sup>2</sup>, Fusari A.<sup>2</sup>, Cristini L.<sup>3</sup>, Lazzarelli S.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Istituto di Clinica Medica Veterinaria, Università degli Studi di Parma*

<sup>2</sup>*Istituto di Diagnostica e Tossicologia Sperimentale Veterinaria, Università degli Studi di Parma*

<sup>3</sup>*Associazione Provinciale Allevatori di Parma*

## PREMESSA

La peculiare sensibilità degli ovini all'eccesso di rame nella razione è ben nota agli operatori zootecnico-veterinari specializzati in questa specie animale, ma lo è molto meno fra quanti svolgono saltuariamente la loro attività nel settore ovicaprino ovvero operano in diversi tipi di attività zootecnica, fra i quali, occasionalmente, si trovano anche gli ovini.

Del resto, la maggioranza degli allevamenti ovini è concentrata in aree relativamente ristrette del nostro Paese (Toscana, Puglia, Grandi Isole), ma insediamenti zootecnici di apprezzabile consistenza sono presenti (e altri ne stanno sorgendo!) in altre zone d'Italia, spesso "in coabitazione" o in sostituzione di preesistenti allevamenti di bovini, suini, ecc.

In questa situazione è facile che, anche da parte di tecnici o addirittura di veterinari con scarsa esperienza "specie-specifica", gli ovini vengano considerati sotto il profilo nutrizionale, terapeutico, ecc. come dei «piccoli bovini», cui si applicano, *mutatis mutandis* esclusivamente in proporzione al peso vivo, le stesse sostanze e con le medesime finalità previste per i grandi ruminanti.

E' il caso dell'integrazione rameica che, applicata con successo nell'alimentazione della vacca da latte, può scatenare negli ovini gravi eventi tossici se usata in dosi ridotte in base al solo parametro del peso corporeo rispetto a quelle applicate ai bovini.

Alla descrizione di un episodio di questo tipo è dedicata la presente nota, in cui verranno discusse anche le implicazioni di ordine clinico e gestionale di questa tossicosi.

## OSSERVAZIONI PERSONALI

Oggetto delle nostre osservazioni è stato un gregge di circa 600 pecore di razza sarda allevate in regime di pascolo libero su terreni golenali del fiume Po e dei suoi affluenti di destra nelle provincie di Parma e Reggio Emilia. A detti animali erano somministrati anche mangimi composti integrati, nonché un integratore minerale del commercio.

I problemi clinici di allevamento hanno avuto inizio nel corso dell'estate del 1995, quando nel gregge sono comparsi numerosi casi di debilitazione generale con evidente ipodinamia e svogliatezza nelle pecore gravide, nonché calo della produzione latte e della qualità della lana in quelle in lattazione, in un quadro più generale di anoressia-disoressia dell'intero gregge.

Detta fenomenologia, ancorchè non grave nelle sue fasi iniziali e attribuita alle elevate temperature estive del periodo, era peraltro esitata nella morte di una decina di capi adulti nell'autunno dello stesso anno, che fu attribuita, sulla base anche di riscontri anatomico-istopatologici e batteriologici a fatti di gastroenterotossiemia da probabile infezione clostridica, propiziata dall'alimentazione più ricca della stagione estiva. In effetti, i referti di detti accertamenti facevano riferimento a emorragie petecchiali diffuse alla muscolatura scheletrica, splenomegalia, lesioni epatiche di varia entità e prevelentemente a carattere steatosico-emorragico, congestione fino all'emorragia diffusa a carico del piccolo intestino, congestione ed edema dei reni con fatti autolitici precoci (rene molle)

in alcuni casi, isolamento pressochè costante di *Clostridium perfringens* dal piccolo intestino; in tutti i soggetti esaminati, infine, era presente ittero, anche se con intensità diversa nei diversi soggetti.

Gli interventi terapeutici e profilattici *ad hoc* basati sulla suddetta ipotesi diagnostica non sortivano, però, alcun effetto positivo che, pure, era atteso in tempi brevi, in quanto basati sulla vaccinazione specifica, nonchè su una manovra dietetica in senso ipoproteico, con un consistente aumento dell'apporto di fibra grezza da paglia e fieno e con un intervento farmaco-dietetico in senso acidificante.

Lo stitlicidio di morbilità e di mortalità fra le pecore in questione continuava così senza alcune remissione significativa, portando a morte circa 50 capi fra gli oltre 150 complessivamente coinvolti nel processo morboso in questione.

Le pecore che superavano la fase acuta, peraltro, uscivano gravemente debilitate dalla malattia, tanto che alcune di esse dovevano essere avviate alla macellazione, in quanto non ricuperavano più una "forma" zoo-produttiva che ne giustificasse l'allevamento.

Il protrarsi incontrollato della patologia sopradescritta, che appariva insensibile al pur consistente intervento terapeutico prontamente messo in atto, induceva il veterinario curante a sollecitare un intervento diagnostico da parte degli AA. della presente nota.

Ulteriori accertamenti clinico-diagnostici eseguiti in questa fase dell'evoluzione del caso in discussione confermavano lo stato di debilitazione generale delle pecore, con grave anemia, disidratazione, tachicardia, ipodinamia, nonchè comparsa di ittero, irruminazione e ipotermia nelle fasi più avanzate ed in quelle terminali della malattia.

In pari tempo, si procedeva all'esecuzione di prelievi di sangue nelle pecore ammalate e in un campione consistente delle pecore ancora apparentemente sane. Su detti campioni ematici si eseguiva innanzitutto l'esame emocromocitometrico che metteva in evidenza un quadro riferibile ad una grave *anemia ipocromica e macrocitica* (tab. 1).

PARAMETRO	Unità di misura	VALORE MEDIO	DEVIAS. STANDARD	VALORI NORMALI
Proteine T.	g/dl	7,48	0,67	6-8
Albumina	g/dl	2,61	0,59	2,8-3,6
Globuline	g/dl	4,64	0,47	3,2-4,4
Lipidi T.	mg/dl	178	40,35	280-410
Colesterolo T.	mg/dl	70,6	17,17	60-150
Glucosio	mg/dl	41,9	9,00	40-60
Urea	mg/dl	64,1	21,1	10-45
Bilirubina T.	mg/dl	2,29	2,58	< 1,0
GOT	mU/ml	63,8	18,53	< 30
γ-GT	mU/ml	39,6	7,18	< 22
GPT	mU/ml	11,1	3,83	< 18
CK	mU/ml	37,1	8,03	< 15
Calcio	mg/dl	9,78	0,42	9-12
Fosforo in.	mg/dl	6,06	1,23	4,7-7,5
Rame	µg/dl	302	27,50	130-172
Zinco	µg/dl	121	18,72	60-100
Sodio	mg/dl	334	15,63	330-360
Potassio	mg/dl	26,3	1,48	14-18

Tabella n. 1: valori medi e di deviazione standard di parametri plasmatici di pecore con intossicazione da rame.

Gli accertamenti ematochimici (tab. 2) evidenziavano nelle pecore ammalate, anche in stadi precoci della malattia, ipoalbuminemia, ipolipidemia, ipoglicemia, iperkaliemia, ipercupremia; erano presenti, inoltre, valori serici multipli di quelli fisiologici per quanto riguarda gamma-GT, GOT e bilirubina totale, nonchè della creatininemia. Detti rilievi erano considerati significativi per la presenza di insufficienza epato- biliare subacuto-cronica da steatosi epatica, anche se la presenza di un'elevata concentrazione serica di rame male si inquadrava in un reperto come quello sopra descritto.

PARAMETRO	Unità di misura	VALORE MEDIO	DEVIAZ. STANDARD	VALORI NORMALI
Hct	%	33,1	5,67	27-45
Hb	g/dl	10,49	2,05	9-15
RBC	cel. $\times 10^3/\mu L$	4,991	722	9-15
MCV	femtolitri	68,3	9,08	28-40
MCH	picogrammi	21,8	3,47	8-12
MCHC	%	32,6	1,18	31-34
WBC	cel. $\times 10^3/\mu L$	10,6	1,85	4-12

Tabella n. 2: parametri ematologici di pecore con intossicazione da rame.  
 Legenda: Hct=ematocrito; Hb=emoglobina; RBC=globuli rossi; MCV=volume cellulare medio; MCH=contenuto emoglobinico cellulare medio; MCHC=contenuto emoglobinico percentuale; WBC=globuli bianchi.

In questa prospettiva e in mancanza di rilievi che consentissero di spiegare quest'ultimo reperto, si procedeva ad approfondire le indagini di laboratorio, al fine di definire eventuali concentrazioni anomale di rame in altri tessuti ed organi, nonchè di ricercare eventuali fonti di inquinamento da metalli inquinanti.

A tal fine si procedeva ad analisi specifiche, fra le quali la più rapida a fornire risultati indicativi era la colorazione specifica di campioni di tessuto epatico, prelevato da cadaveri di pecore nel frattempo venute a morte, per la ricerca del rame, che dava esito nettamente positivo; ulteriori accertamenti anatomo- e istopatologici confermavano la presenza di ittero generalizzato, grave steatosi, necrosi centrolobulare e imponente emolisi.

Alla luce di detti reperti, appariva ancora più giustificata, dunque, la ricerca del rame in campioni di acqua, fieno e mangime utilizzati per l'alimentazione degli animali, che dava i risultati espressi nella tab. 3. Si tratta di concentrazioni tutt'altro che elevate, anche se in almeno uno dei mangimi utilizzati in precedenza dall'allevatore il rame era presente in concentrazione molto superiore a quella obiettata negli altri mangimi. In effetti, l'allevatore stesso non aveva difficoltà ad ammettere di avere acquistato detto mangime da un venditore che gli aveva assicurato la validità di detto presidio nutrizionale nelle miglioramento delle produzioni del gregge, *anche se destinato alle vacche da latte*.

ALIMENTO	Unità di misura	PIOMBO	CADMIO	RAME
fieno 1	mg/Kg	0,23	0,35	12,5
fieno 2	mg/Kg	0,31	<0,01	2,75
mangime 1	mg/Kg	4,70	0,35	12,5
mangime 2	mg/Kg	5,65	0,36	13,5
mangime 3	mg/Kg	0,55	0,30	3,75
acqua	mg/L	0,02	<0,02	0,28

Tabella n. 3: concentrazione di metalli pesanti in alimenti somministrati a pecore con intossicazione da rame.

A questo punto il sospetto di un avvelenamento accidentale da rame attraverso l'alimentazione diventava consistente e si procedeva, di conseguenza ad ulteriori accertamenti analitici, sia sugli organi e tessuti degli animali morti, sia sugli alimenti somministrati in passato al gregge in questione.

ALIMENTO	Unità di misura	RAME
Cervello	mg/Kg t.u.	24,4
Fegato	mg/Kg t.u.	10,8
Rene	mg/Kg t.u.	14,6

Tabella n. 4: concentrazione di rame in tessuti di pecore con intossicazione da rame.

Per quanto attiene agli accertamenti istochimici, i risultati (tab. 4) apparivano subito di entità positiva impressionante per quanto riguardava le concentrazioni di rame nel fegato, nel rene e nel cervello, decine o centinaia di volte multiple rispetto a quelle normali. Ancora più sconcertanti, peraltro, apparivano le indagini anamnesiche retrospettive, che consentivano di reperire in allevamento alcuni "cartellini" relativi ad un *integratore minerale per vacche da latte* che l'allevatore stesso ammetteva con qualche reticenza di avere somministrato fino a poco tempo prima alle proprie pecore. Detto integratore conteneva 470 mg/kg di rame e, per ammissione dello stesso allevatore, era stato somministrato per almeno 6 mesi in dosi pari a 50 grammi/capo/giorno. Un rapido calcolo delle dosi giornaliere di rame assunto dalle pecore in oggetto consentiva di quantificare il ruolo assunto dal rame nel determinismo della malattia che stava lentamente decimando il gregge e la diagnosi finale veniva doverosamente modificata in sindrome di insufficienza epato-biliare e renale acuto-subacuta con imponenti fatti emolitici da eccesso di integrazione cuprica, con complicazioni ittero-emorragiche da steatosi, nefrosi e dismicrobismo rumino-intestinale, ad esito spesso mortale.

Detta diagnosi minimizzava il "peso" eziopatogenetico della componente infettiva (clostridiosi) della sindrome, che pure era presente, confermando, in effetti, quanto già sospettato sulla base del quadro clinico, dell'evoluzione del focolaio di malattia e della sua sostanziale insensibilità ai trattamenti terapeutici e profilattici già attuati nei primi momenti della malattia stessa sulla base dell'assunto diagnostico formulato in sede di primo intervento.

## DISCUSSIONE

La diagnosi precedentemente specificata definisce una situazione clinico-zootecnica e umana del tutto "classica", in cui l'esigenza di realizzare produzioni elevate pone gli allevatori a rischio di gravi errori gestionali dei rispettivi armenti, spesso propiziati dall'incompetenza o dalla superficialità di alcuni fra quanti operano nel settore zootecnico con finalità commerciali o come fornitori di servizi.

Nella realtà della tradizione zootecnica italiana e, in particolare, dell'allevamento ovino (ma anche per le altre specie animali poco ci si discosta da questa situazione di fatto!), i venditori di materiali per uso zootecnico, soprattutto quelli a valore tecnologico elevato rispetto alla competenza dell'allevatore (mangimi composti, integratori per mangimi, attrezzature zootecniche, ecc.), svolgono infatti una ben consapevole funzione di aggiornamento culturale e professionale e, soprattutto, di assistenza tecnica agli allevatori.

Questa attività è tanto importante anche ai fini promozionali e commerciali che gli allevatori danno un peso rilevante, nella scelta delle ditte fornitrici, proprio all'assistenza tecnica fornita dalle stesse. Per questo scopo, le ditte che operano in zootecnia si giovano quasi sempre della collaborazione di specialisti e di esperti in tecnologie di allevamento (selezione, alimentazione, sanità, ecc.), anche se spesso le funzioni di assistenza tecnica e di vendita coesistono nelle stesse persone, talvolta per mera usurpazione di competenze e di titoli professionali o culturali o per avidità dei rispettivi "ritorni" economici.

Questo stato di cose provoca, infatti, frequenti sovrapposizioni o scambi di ruoli per cui ad esempio, l'addetto all'assistenza tecnica vende, oltre che consigli tecnici, anche prodotti della ditta di cui è dipendente mentre, per contro, il venditore impartisce nozioni tecniche finalizzate a "piazzare" i prodotti disponibili nel catalogo della propria ditta.

All'origine dell'evento zoopatologico in discussione c'è presumibilmente una situazione analoga a quella sopra descritta, che ha portato funzionari di una ditta mangimistica a prescrivere e a vendere, con sole finalità di "fatturato", un mangime composto e un integratore per mangimi destinati *esclusivamente* ai bovini, probabilmente perchè nel prontuario della ditta non era al momento presente nessun prodotto analogo, preparato e destinato agli ovini.

La sensibilità della specie ovina all'eccesso di rame nella dieta è ben nota da tempo ed è di entità tale da giustificare il "terrore" da parte di quanti hanno pratica di allevamento e di patologia degli ovini per le conseguenze di un apporto anche modesto di questo metallo, facilmente causa di un vero e proprio avvelenamento da rame.

Il rischio tossicologico da rame è esaltato dalle condizioni di forzatura alimentare che qualsivoglia effettivo animale in produzione zootecnica subisce per garantire produzioni economicamente proficue. Questo stato di cose "carica" la funzione epato-renale degli ovini fino al limite della tollerabilità biologica per le rispettive strutture anatomiche, tanto che "sforamenti" anche modesti dei limiti massimi di tollerabilità di questo elemento si esprimono in manifestazioni cliniche drammatiche, già descritte da tempo ed esaurientemente nella trattatistica (Haring, 1976; Sharman, 1983; Carlson, 1990; Manuale Merck Veterinario, 1995) e nella letteratura medico-veterinaria nazionale ed internazionale (Howell, 1980; Sommerville e Mason, 1985; Zannetti e coll., 1987; Martin e coll., 1988; Zannetti e coll., 1988; Suttle, 1990; Vieio, 1991; Zuric e coll., 1991; Gough, 1991; Robles e coll., 1993; Bires e Konrad, 1993; Sargison e coll., 1994; Roias e coll., 1995), *per citare solo le segnalazioni bibliografiche più significative ed importanti apparse negli ultimi quindici anni sull'argomento.*

Si tratta di una massa enorme di esperienze e di conoscenze scientifiche che non ha certamente uguali nella patologia tossicologica degli ovini e che testimonia della frequenza e rilevanza che la tossicità da rame in questa specie ha anche in Paesi ed in contesti

zootecnici i più diversi.

In effetti, la dose tossica *acuta* di rame per unità di p.v. negli ovini è circa *un decimo* di quella nota per i grandi ruminanti ed è fissata fra 20 e 100 mg/kg p.v., mentre l'intossicazione *cronica*, ancora negli ovini, può verificarsi già con assunzione giornaliera di rame pari a 0,5 mg/kg p.v. Si tratta di quantitativi assai bassi, soprattutto se si considera che per questi animali esiste un *apporto di rame del tutto inevitabile*, ossia quello che deriva dall'assunzione di foraggi tradizionali (fieno, cereali, ecc.) che ne contengono quote variabili in relazione alla composizione chimica dei terreni sui quali sono raccolti, dell'acqua di abbeverata, dei pascoli, ecc. La tossicità del rame è influenzata, inoltre, dal rapporto fra concentrazione di questo metallo con quella del molibdeno o dello zolfo, elementi che interferiscono con l'assorbimento e la ritenzione epatica del rame stesso.

Il raggiungimento di concentrazioni organiche inevitabilmente tossiche di rame nel gregge oggetto della presente nota si è evidentemente realizzato con la somministrazione di un integratore minerale ad elevato contenuto in rame (470 mg/kg!). Detto integratore, distribuito e somministrato alle pecore in dosi di circa 50 grammi/capo/giorno, apportava circa 25 mg di rame al giorno, ai quali si aggiungevano quantità diverse dello stesso metallo derivanti dall'assunzione di fieno (circa 3 mg/capo/giorno), di mangime complementare (anch'esso con indicazioni *esclusive* per bovine da latte!), che apportava circa 15 mg/capo/giorno, per complessivi 43 mg/capo/giorno.

A questa già rilevante quantità, si deve aggiungere il rame contenuto nell'acqua di abbeverata, nella paglia di lettiera e nel pascolo occasionalmente offerto alle stesse pecore, che portava la razione quotidiana di rame su valori ben superiori a 25 mg/capo/giorno, dose in grado di indurre accumulo *cronico* "maligno" di rame nel fegato dei medesimi animali. E' parimenti evidente che l'apporto più consistente alle quantità tossiche giornaliere di rame assunte dalle pecore in questione era fornito proprio dalla somministrazione dell'integratore minerale, proposto per l'acquisto dai funzionari di vendita della ditta produttrice dell'integratore stesso, che pure erano consapevoli della destinazione *esclusiva* della preparazione all'alimentazione dei bovini.

Del resto, il quadro clinico e l'evoluzione stessa della malattia che avevano colpito e condotto a morte parte delle pecore oggetto della presente nota coincidono perfettamente con quelli descritti nella letteratura precedentemente citata, in particolare la progressiva debolezza, l'anemia, l'ittero e il calo complessivo delle produzioni zootecniche.

In questo medesimo contesto clinico si inseriscono altrettanto logicamente i reperti emocromocitometrici ed ematochimici sul sangue di un campione significativo degli animali coinvolti nell'episodio morboso in questione. In questi rilievi dominano modificazioni significative per grave insufficienza epatica con steatosi (aumento di GOT e gamma-GT), in pieno accordo con quanto riportato da diversi AA. (Zannetti e coll., 1988; Zervas e coll. 1990; Sutherland e coll. 1992), nonché quelle relative ad una attività emolitica ed eritropoietica anomala, come segnalano i parametri ematologici RBC, MCH e MCV (Carlson, 1990).

A questi sintomi corrispondono inevitabilmente le lesioni anatomo- e istopatologiche rilevate sui soggetti venuti a morte, in cui la necrosi epatica centrolobulare, l'ittero, l'emolisi, la splenomegalia, costituiscono un quadro inequivocabilmente legato all'avvelenamento da rame, come conferma la letteratura e la trattatistica precedentemente citata per quanto attiene ai reperti post-mortem caratteristici di questo tipo di tossicosi.

I reperti istochimici eseguiti sui visceri degli animali coinvolti nel processo morboso in discussione confermano ulteriormente questo assunto diagnostico, laddove mettono in evidenza concentrazioni di questo elemento comprese fra valori minimi di 24,4 mg/kg del cervello, di 10,8 mg/kg nel fegato, di 14,6 mg/kg nel rene e valori massimi multipli di questi: fegato 740 mg/kg, rene 21,6 mg/kg! Sono quantitativi di rame enormi, incompatibili con la funzionalità dei parenchimi in cui sono stati ritrovati, addirittura multipli di quelli (fegato 150 mg/kg, rene 15 mg/kg) indicati in letteratura (Sharman, 1983; Carlson 1990; Suttle, 1988; Gough, 1991) come significativi per la diagnosi di avvelenamento da rame.

Anche sotto il profilo diagnostico, *in vivo* e *post mortem*, tutti i dati disponibili nell'evento oggetto della presente nota concordano, dunque, nel definire un quadro di avvelenamento da rame e nell'indicare nell'eccesso di apporto di rame indotto dall'integratore

destinato esclusivamente a vacche da latte la causa provata dell'avvelenamento nelle pecore in questione.

Per quanto attiene alla diagnosi primaria di patologia da clostridiosi nel gregge in oggetto, che pure è stata largamente superata dall'accertamento della presenza di un avvelenamento da rame, non è da escludere la reale presenza di complicazioni da batteri anaerobi in forma di tossinfezione da clostridi, da considerare peraltro come epifenomeno di turbe dismetaboliche, autotossiche e disimmunitarie indotte dall'avvelenamento cronico da rame.

## CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

Sulla base di quanto precedentemente discusso sull'episodio dell'avvelenamento da rame caduto sotto la nostra osservazione, si ritiene di poter formulare le seguenti conclusioni:

- risulta largamente provata la possibilità di insorgenza di avvelenamento da rame per effetto di una integrazione minerale con prodotti del commercio formulati per i bovini da latte;
- l'avvelenamento da rame suddetto deve essere attribuito senza consistenti elementi di dubbio alla somministrazione protratta di un integratore minerale, da usare esclusivamente nei bovini, in quanto contenente quantità di rame suscettibili di provocare fatti da intossicazione cuprica negli ovini;
- il rischio di insorgenza di questo tipo di avvelenamento è tanto più consistente nelle zone in cui l'allevamento ovino deve convivere con quello, dominante, dei bovini e, soprattutto, dove la competenza zootecnico-veterinaria sugli ovini è conseguentemente ed inevitabilmente modesta;
- la tossicosi cronica da rame insorta con lel modalità e nelle circostanze illustrate nella presente nota assume contorni sintomatologici, clinici e di laboratorio, che possono almeno in parte coincidere con quelli che caratterizzano le gastroenterotossiemie da clostridiosi, con le quali non è certo da escludere la coesistenza della cuprotossicosi, dando vita a quadri anatomo-patologici e clinici di ancor più difficile interpretazione.

## BIBLIOGRAFIA

- AA.VV.: Avvelenamento da rame - In: Manuale Merck Veterinario, Edagricole, Bologna, 1995;
- Bires J., Konrad V.: Spontaneous and experimental copper intoxication of sheep: clinical and pathological findings - Tierarztl. Umsch., 48, 887, 1993;
- Carlson G.P., George L.W.: Copper toxicosis - In: Large Animal Internal Medicine, B.P. Smith ed., C.V. Mosby Co., St. Louis, 1990;
- Gough J.: Copper poisoning in lambs fed horse and cattle feed - Can. Vet. J., 32,750, 1991;
- Haring F.: Shaftzucht - E. Ulmer, Stuttgart, 1976;
- Howell J.C.: Creatine kinase release and muscle changes in copper poisoning in sheep - Res. Vet. Sci., 28, 351, 1980;
- Jensen R.: Diseases of Sheep - Lea & Febiger, Philadelphia, 1974;
- Martin B.J., Dysko R.C., Chrisp C.E., Ringler D.H.: Copper poisoning in sheep - Lab. Anim. Sci., 38, 734, 1988;
- Robles C.A., Uzal F.A., Olaechea F.V.: Chronic copper poisoning in dairy sheep - Vet. Argent., 10, 95, 1993;
- Roias L.X., McDowell L.R., Wilkinson M.S., Velasquez J.B.: Development of acute poisoning in sheep fed organic or inorganic copper - Int. J. An. Sci., 10, 41, 1995;
- Sargison N.D., Scott P.R., Penny C.D., Pirie R.S.: Polioencephalomalacia associated with chronic copper poisoning in a Suffolk ram lamb - Vet. Rec., 135, 556, 1994;
- Sharman G.A.M.: Plant and Inorganic Poisons - In: Martin W.B.: Diseases of Sheep, Blackwell Sci. Publ., Oxford, 1983;
- Sommerville G.F., Mason J.B.: Copper overdosage in sheep - New Zealand Vet. J., 33, 98, 1985;
- Suttle N.F.: Chronic copper poisoning in sheep - Sheep Dairy News, 7, 10, 1990;

- Vieio R.E.: Copper poisoning in sheep - *Archivos Med. Vet.*, 23, 109, 1991;
- Zannetti G., Ubaldi A., Martelli P., Corradi A., Cristini L.: Intossicazione da rame e acidosi alimentare nella pecora - *Obiettivi & Documenti Vet.*, 9, 73, 1988;
- Zannetti G., Ubaldi A., Martelli P., Cristini L.: Patologia metabolica plurifattoriale nella pecora. Segnalazione di un caso documentato - *Atti S.I.S.Vet.*, 41, 549, 1987;
- Zervas G., Nikolaou E., Mantzios A.: Comparative study of chronic copper poisoning in lambs and young goats - *Anim. Prod.*, 50, 497, 1990;
- Zoric M., Zutic M.: Outbreak of chronic copper poisoning in sheep - *Veter. Stan.*, 2, 331, 1991.

# UN CASO DI DISCOSPONDILITE ASSOCIATO A *BRUCELLA CANIS*

Marioni Katia<sup>1</sup>, William B. Thomas<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Istituto di Clinica Medica Veterinaria, Università di Parma.

<sup>2</sup>Dept. of Small Animal Sciences, University of Tennessee.

## PREMESSA

Casi di discospondilite sono abbastanza frequenti nella pratica clinica e in genere non costituiscono un problema né per la diagnosi, né per la terapia, ma talvolta ad una più accurata indagine clinica, rivelano la presenza di una patologia sistemica molto più complessa.

È questo il caso della brucellosi: una patologia subdola, che negli Stati Uniti viene facilmente riconosciuta e diagnosticata negli allevamenti canini con problemi endemici di fertilità ed aborti (Johnson, 1995), ma che rappresenta una sfida diagnostica nel caso di singoli animali non riproduttori.

Infatti, i segni di un'infezione da *Brucella canis*, se si escludono quelli riferibili all'apparato riproduttivo, sono aspecifici e di modesta rilevanza.

Dermatiti, uveiti, osteomieliti, endocarditi e, come nel caso oggetto della presente nota, discospondilite (Kerwin, 1992; Henderson, 1974) possono quindi essere spie di un'infezione brucellare rischiosa per la salute sia dell'animale, sia del proprietario, dal momento che la brucellosi canina rappresenta anche un rischio zoonotico (Kornegay, 1983; Johnson, 1995). Nel corso di un recente soggiorno di studio negli USA ho avuto modo di osservare un caso di malattia articolare nel cane sostenuta da *B. canis*, che ritengo opportuno segnalare, in quanto emblematico di una situazione clinica relativamente frequente in quel Paese e che potrebbe divenire tale anche in Europa.

## BRUCELLOSI CANINA

I cani hanno una buona resistenza nei confronti di *Brucella suis*, *B. melitensis*, *B. abortus*, per cui l'infezione con questi ceppi brucellari determina tutt'al più fenomeni infettivi localizzati (orchiti, aborti, osteomieliti, poliartriti, discospondilite) e limitati a singoli soggetti (Henderson 1974).

L'infezione da *Brucella canis*, invece, ha un'alta morbilità e tutti i soggetti facenti parte di un allevamento o di un canile dove si sia isolata *B. canis* sono esposti al rischio del contagio, che porta a gravi conseguenze soprattutto dal punto di vista riproduttivo.

*Brucella canis* è un piccolo coccobacillo aerobico Gram-negativo, che infetta i canidi e, raramente, l'uomo.

Nelle femmine la trasmissione della malattia avviene soprattutto attraverso il coito, il materiale abortito e le secrezioni latte, ma è possibile anche la diffusione tramite le urine e le secrezioni mucose, anche se di minore importanza per lo scarso numero di microrganismi eliminati con questi secreti. Per i maschi la trasmissione dell'infezione avviene essenzialmente attraverso il coito e i microrganismi sono rinvenibili nelle urine solo per 3 mesi a partire dall'inizio della batteriemia, mentre nello sperma *B. canis* è presente in alto numero nelle prime 6-8 settimane, dopodiché il microrganismo si localizza nell'epididimo e nella prostata, da cui viene escreto in maniera incostante anche per 1-2 anni. La batteriemia si verifica a 1-4 settimane dall'infezione e può persistere da pochi mesi fino a 4 o 5 anni. Dopo 4-12 settimane si sviluppano anche i titoli anticorpali, che rimangono elevati per tutta la durata della batteriemia, ma che non sono comunque protettivi nei confronti di *B. canis*, che è un ospite intracellulare. Quando il microrganismo ripara nei tessuti, i titoli anticorpali diminuiscono, ma i tests sierologici risultano ancora positivi, anche se l'isolamento del batterio è assai arduo.

I soggetti sintomatici presentano, se si tratta di maschi, orchite (generalmente unilaterale), epididimite, iniziale aumento delle dimensioni dei testicoli, alterazione della qualità dello sperma, con successive azoospermia, atrofia testicolare e prostatite.

Le cagne, invece, sono apparentemente sane, ma vanno incontro ad aborti ripetuti. Nella maggior parte dei casi si tratterà di aborti tardivi, tra il 45° ed il 55° giorno di gestazione, ma può verificarsi anche riassorbimento embrionale, aborto precoce, natimortalità o nascita di cuccioli batteriemici per diversi mesi (Feldman e Nelson, 1992).

In entrambi i sessi la sintomatologia sistemica è scarsa e non c'è ipertermia neppure durante la fase batteriemica, forse per l'assenza di endotossine batteriche (Carmichael, 1968). Sono stati

segnalati, invece, reazione linfonodale sistemica e splenica (Feldman e Nelson, 1992) ed il coinvolgimento di altri tessuti, con manifestazioni quali uveite ricorrente, discospondilite del tratto toraco-lombare, osteomielite e dermatite (Johnson, 1995).

Le prove sierologiche più significative ai fini diagnostici sono:

- l'agglutinazione rapida su vetrino, veloce ma soggetta a falsi positivi;
- l'agglutinazione lenta in provetta, più attendibile e la cui aggiunta di 2-mercaptoetanolo sembra aumentarne la specificità,
- l'immunodiffusione su agar gel, considerata la più sensibile ed attendibile delle prove, ma dall'esecuzione più indaginosa.

La diagnosi definitiva, però, si basa esclusivamente sull'isolamento del microrganismo, che può essere effettuato da colture di sangue, latte, urine, scolo vaginale, materiale abortito, sperma, linfonodi e midollo osseo.

In realtà, l'isolamento del germe è molto difficile ed è più probabile da sangue intero, se prelevato all'inizio della batteriemia.

## CASO CLINICO

Un cane meticcio, femmina, sterilizzata, di 6 anni d'età e del peso di 19 kg, è stata presentata al servizio neurologico dell'Ospedale Veterinario dell'Università del Tennessee a causa di una persistente dolorabilità a livello della porzione toracica della spina dorsale.

Il cane proveniva da un ente protezionistico ed il proprietario ne era entrato in possesso da circa 1 anno; sia la profilassi vaccinale contro le principali malattie di specie, sia quella contro la filariosi venivano attuate regolarmente.

Secondo il proprietario, da circa un mese l'animale manifestava algia quando veniva sollevato da terra, i suoi movimenti apparivano rallentati e l'appetito diminuito.

Il veterinario curante aveva prescritto una terapia antinfiammatoria (desametasone e carprofen), che aveva indotto solo un leggero miglioramento delle condizioni dell'animale.

All'esame obiettivo generale il soggetto si presentava tachipnoico, con polso femorale di 60 battiti al minuto e temperatura corporea di 39,3°C. Le mucose apparivano rosee e, alla palpazione, tutti i linfonodi superficiali erano nella norma.

All'esame obiettivo particolare del sistema nervoso lo stato mentale, la postura e l'andatura del cane apparivano tutti nella norma: unico rilievo significativo, l'atteggiamento lievemente cifotico dell'animale. L'esame dei nervi cranici, dei riflessi posturali e spinali non apportava alcun dato significativo, mentre all'esame della sensibilità dolorifica, si evidenziava un'area di iperestesia a metà del tratto toracico della colonna vertebrale.

Gli esami ematologici rivelavano una leucopenia (3.800 leucociti per microlitro) con rispetto delle normali percentuali della formula leucocitaria ed una modesta piastrinopenia. Si eseguiva anche un esame citologico del midollo osseo, mediante un ago aspirato dalla fossa trocanterica del femore, il cui risultato indicava la presenza di iperplasia mieloide.

I parametri biochimici clinici apparivano tutti sostanzialmente nella norma, ma le urine presentavano aspetto torbido, innalzamento del peso specifico (1040), tracce di proteine e rari leucociti.

All'esame radiologico venivano evidenziate lesioni interessanti gli spazi intervertebrali T6-7 e T7-8 (FIG.1).

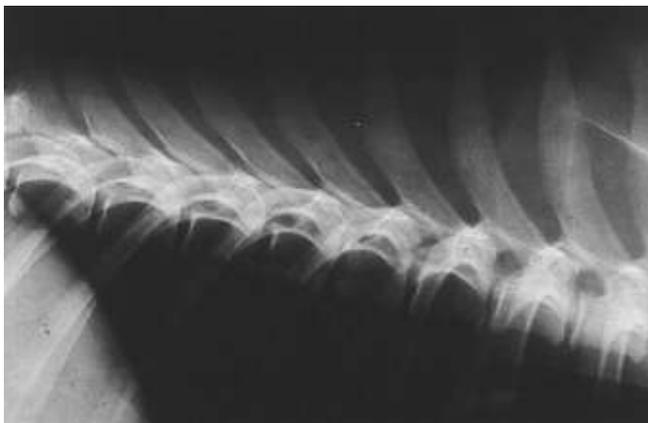


Figura 1. Radiografia in proiezione latero-laterale della porzione toracica della spina dorsale. Si notano delle

aree radiolucenti nelle epifisi vertebrali a livello degli spazi T6-7 e T7-8. In corrispondenza dello spazio T6-7 è presente una proliferazione ossea a ponte, indice di un processo cronico esitato in una spondilosi.

Lo spazio T6-7 risultava essere ristretto se paragonato agli spazi vicini, per cui il disco intervertebrale era probabilmente andato incontro a fenomeni degenerativi, che ne avevano modificato lo spessore o la posizione tra i piatti vertebrali. Anche questi ultimi avevano subito una degenerazione che aveva portato ad un rimodellamento dei margini delle epifisi vertebrali, mentre ventralmente ai corpi vertebrali sempre di T6 e T7 si notava una neoformazione di osso che andava assumendo la forma di un ponte e che deponeva per un processo cronico o spondilosi (FIG.2).

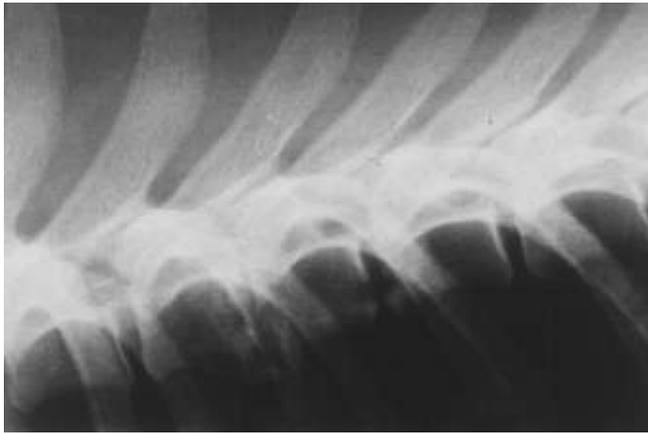


Figura 2. Particolare della figura precedente. E' ben visibile un'area radiolucente con i margini del piatto vertebrale di T7 e T8 sclerotici. Lo spazio intervertebrale T6-7 appare ristretto, i margini delle epifisi vertebrali sono irregolari e vi sono chiari segni di spondilosi deformante.

A livello dello spazio intervertebrale T7-8 si osservava un'area radiolucente che pareva originare dallo spazio intervertebrale e si estendeva in maniera simmetrica alle epifisi vertebrali contigue, i cui margini, più radiopachi, denunciavano la presenza di un processo di sclerosi (FIG.2). La diagnosi iniziale, desunta in particolare dai rilievi radiografici, è stata di *turbe dolorifiche motorie da discospondilite dello spazio intervertebrale T7-8 e spondilosi deformante in corrispondenza dello spazio T6-7*.

In attesa dei risultati degli esami colturali effettuati sui campioni di sangue ed urine e degli esami sierologici di routine nei casi di discospondilite, è stata instaurata una terapia iniziale con cefalessina, alle dosi di 500 mg PO 2 volte al dì, con la raccomandazione di limitare l'attività fisica del cane.

L'indagine sierologica ha dato risultati positivi per *Brucella canis*, sia al test dell'agglutinazione in provetta con 2-mercaptoetanolo, sia al test dell'immunodiffusione su gel di agar, effettuato con antigeni citoplasmatici.

L'emocoltura ha confermato questi risultati, evidenziando positività per *Brucella canis*, così come l'urocoltura: 33.000 UFC/ml di *B. canis* e 1.000 UFC/ml di *Staphylococcus* (probabile contaminante).

La diagnosi finale è stata, dunque, di discospondilite associata ad infezione da *Brucella canis*, per cui la terapia è stata modificata a favore di una somministrazione di enrofloxacin 5 mg/kg PO ogni 12 ore, protratta per 8 settimane, come suggerito da Kerwin e coll. (1992) e da Mateu-de-Antonio e coll.(1995).

Follow up: nel volgere di 1 settimana si è avuta la regressione completa della sintomatologia clinica e, a distanza di 6 mesi, il proprietario ha riferito delle buone condizioni di salute dell'animale, senza segni di recidive.

## DISCUSSIONE

Le lesioni evidenziate all'esame radiografico depongono, abbastanza chiaramente, per un fatto infettivo a livello del disco intervertebrale e dei corpi vertebrali delle vertebre contigue.

Le forme di discospondilite si distinguono, a seconda dell'eziologia, in traumatica, iatrogena, da corpo estraneo ed ematogena. Le ematogene sono quelle di più frequente riscontro, si verificano per migrazione attraverso il circolo ematico di germi provenienti da infezioni della pelle, gengivali, del tratto genito-urinario o delle valvole cardiache (Braund, 1994).

Vi sono poi due ipotesi eziopatogenetiche, una che fa risalire l'arrivo dei microrganismi ai capillari arteriosi vertebrali, che determinano un rallentamento del circolo a livello dei corpi vertebrali. L'altra ipotesi, invece, considera come punto di partenza dell'infezione il disco intervertebrale, che riceve l'irrorazione dall'anulus fibroso (Corlazzoli, 1994).

Nel caso in questione, sono state escluse sulla base dell'anamnesi le possibili cause traumatiche e iatrogene. Il tipo di lesione rinvenuta a livello dello spazio T7-8, cioè la lisi perfettamente simmetrica dei piatti vertebrali delle vertebre contigue, fa ritenere più probabile una causa ematogena ad insorgenza dal disco intervertebrale.

Queste lesioni depongono per un'infezione recente a livello dello spazio T7-8, a motivo dei fenomeni litici e della reazione periostale responsabile della sclerosi dei piatti vertebrali. Per l'articolazione T6-7, invece, è evidente un restringimento dello spazio intervertebrale, il rimodellamento dei margini vertebrali e la proliferazione ossea che ha formato un ponte fra questi ultimi, testimonianza di un'evoluzione cronica della malattia in questa sede.

Il tipo di lesione non fornisce, comunque, alcuna indicazione sull'agente causale. In genere si tratta di Stafilococchi coagulasi positivi, come *S. aureus* o *S. intermedius*, ma sono stati isolati anche altri organismi: oltre a *Brucella canis*, *Streptococcus canis*, *Nocardia*, *Escherichia coli*, *Alcaligenes* spp., *Micrococcus* spp., *Proteus* spp., *Corynebacterium diphtheroides*, *Mycobacterium avium* ed alcuni funghi, come *Aspergillus terreus* e *Paecilomyces varicosi* (Braund, 1994).

Finora in Italia non è stato segnalato nessun caso di infezione da *B. canis*, nonostante siano state riportate positività sierologiche in diverse regioni italiane (Ciuchini e al. 1982, Colella e al. 1980, Valente e al. 1991, Vesco e al. 1987). Manca, però, la conferma fornita dall'isolamento del microrganismo, nè si può escludere che si sia trattato di positività crociate o aspecifiche, anche se i cani sono considerati relativamente resistenti a *B. melitensis*, *B. abortus* e *B. suis*.

Ciuchini e coll. (1982) hanno testato cani della zona di Roma tramite l'agglutinazione rapida su vetrino semplice, con aggiunta di 2-mercaptoetanolo, e la sieroagglutinazione lenta. Tutte e tre le suddette prove hanno mostrato una buona concordanza, l'aggiunta del 2-mercaptoetanolo ne ha migliorato la specificità e tutti i sieri sono stati saggiati per *B. abortus* con esiti negativi. I risultati di questa ricerca, incidenza di positività per *B. canis* dell'1,3% in cani da compagnia e del 2,4% in cani randagi, sembrano dunque avere una buona attendibilità.

## CONCLUSIONI

Che la brucellosi non fosse mero appannaggio di animali da reddito quali ovini, caprini e bovini è un fatto riconosciuto, ma forse non tutti hanno preso in considerazione il cane come soggetto di un'infezione brucellare non occasionale, ma endemica, sostenuta da uno stipite specifico per la specie canina ed occasionalmente per l'uomo.

Ciò dipende in massima parte dal fatto che *Brucella canis* non è responsabile di un'infezione dalla sintomatologia eclatante o patognomonica, per cui si rende assai difficile individuare l'animale durante la fase batteriémica o di secrezione dei microrganismi. La fase escretoria, inoltre, può avvenire in maniera discontinua o può venire mascherata da tentativi terapeutici indirizzati a risolvere quei fenomeni infiammatori aspecifici, come una discospondilite, che sono in realtà spie dell'infezione brucellare.

Si comprende, dunque, come in Italia non sia stato possibile isolare il microrganismo, nonostante i tests sierologici effettuati in diverse regioni siano risultati positivi. Questi tests, ed in particolare l'agglutinazione lenta in provetta con aggiunta di 2-mercaptoetanolo e l'immunodiffusione su gel di agar, hanno una buona attendibilità e specificità, ma sono attuabili in pochissimi laboratori del nostro paese.

Al di là di tutte queste considerazioni di ordine pratico, però, il motivo fondamentale per cui *Brucella canis* non è stata isolata risiede molto probabilmente nella carenza di informazioni che la riguardano. Per questa ragione ho ritenuto fosse utile la presentazione di un caso clinico che, sebbene geograficamente molto lontano da noi, mostri quale sia l'iter diagnostico più corretto per tentare di isolare il microrganismo.

E' vero che nel sud-est degli Stati Uniti la brucellosi canina è piuttosto diffusa, ma segnalazioni a riguardo ci pervengono anche da paesi europei come Francia e Germania. Considerata la facilità con cui gli animali domestici, soprattutto i cani, attraversano i confini europei per partecipare a competizioni o semplicemente al seguito dei proprietari non è difficile immaginare

che ben presto anche la brucellosi canina potrà divenire una realtà ambulatoriale.

#### RINGRAZIAMENTI

Ringrazio il Dr. W.B.Thomas dell'Università del Tennessee, USA per avermi dato la possibilità di presentare questo caso clinico, che ho potuto seguire insieme a lui.

PAROLE CHIAVE: *Brucella canis*, discospondilite, cane.

KEY WORDS: *Brucella canis*, diskospondylitis, dog.

RIASSUNTO. Un cane meticcio, femmina sterilizzata, di 6 anni d'età e 19 kg. di peso è stata sottoposta a visita clinica in quanto sofferente di dolorabilità alla spina dorsale. A livello dello spazio intervertebrale T7-8 sono state evidenziate, attraverso l'esame radiologico, alterazioni indicative di discospondilite.

L'agglutinazione in provetta con 2-mercaptoetanolo ed il test di immunodiffusione su gel di agar per *Brucella canis* sono risultati entrambi positivi. *B.canis* è stata, inoltre, isolata dopo coltura del sangue e delle urine.

Il cane è stato trattato con Enrofloxacin per 8 settimane, dopo 1 settimana di trattamento si è avuta la remissione della sintomatologia clinica e a distanza di 6 mesi non è stato evidenziato alcun segno di recidiva.

In Italia, la presenza di infezioni da *Brucella canis* deve ancora essere provata, poichè il microorganismo è difficilmente isolabile, ma vi sono già segnalazioni di prove sierologiche risultate positive anche nel nostro paese.

SUMMARY. A 6-year-old, 19 kg, spayed female, mixed breed dog was examined because of spinal pain. Radiographic abnormalities typical of diskospondylitis were seen at the T7-8 intervertebral space. Results of the 2-mercaptoethanol tube agglutination test and the agar gel immunodiffusion test for *Brucella canis* were both positive. Results of bacterial cultures of blood and urine were also positive for *B.canis*.

The dog was treated with enrofloxacin for 8 weeks, after 1 week he was clinically normal and after 6 months there were no signs of recurrence.

In Italy the presence of *Brucella canis* infections has still to be confirmed, because the microorganism is not easily isolated, but there are some reports about positive serotests for *B. canis* also in our country.

#### RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

- Braund K.G.: "Diskospondylitis". In "Clinical syndromes in veterinary neurology" Ed. Mosby, 1994.
- Carmichael L.E., Bruner D.W.: "Characteristic of a newly recognized species of brucella responsible for infectious canine abortions" Cornell. Vet. 58:579-592, 1968.
- Ciuchini F., Sala V., Pistoia C., Piccinino G., Pievaroli A., Fantini C.: "Brucellosi da *Brucella canis*: rilievi anticorpali su cani della città e del suburbio di Roma" Clin. Vet. 105: 3:138-144, 1982.
- Colella G., Corsalini T., Goffredo G.: "Indagine sierologica sulla Brucellosi del cane in Puglia e Basilicata" Atti SISVET, 34:330, 1980.
- Corlazzoli D.S., Mortellaro C.M., Lombardo R.: "La discospondilite nel cane: aspetti eziopatogenetici, clinici, terapeutici e prime esperienze personali (Parte I)" Veterinaria 8:3:5-20, 1994.
- Feldman E.C., Nelson R.W.: "Riproduzione nella cagna" In "Endocrinologia e riproduzione del cane e del gatto" Ed.UTET 1992.
- Henderson R.A., Hoerlein B.F. et al.: "Diskospondylitis in three dogs infected with *Brucella canis*" JAVMA 165:5:451-455, 1974.
- Johnson C.A.: "Disturbi della riproduzione" In "Medicina Interna del cane e del gatto" Nelson R.W., Couto C. G., Masson-Ed.Veterinarie, 1995.
- Kerwin S.C., Lewis D.D., Hribernik T.N., Partigton B., Hosgood G., Eilts B.E.: "Diskospondylitis associated with *Brucella canis* infection in dogs: 14 cases (1980-1991)" JAVMA 201:8:1253-1257, 1992.
- Kornegay J.N.: "Diskospondylitis" In VIII Current Veterinary Therapy, Kirk R.W. WB Saunders Co., Philadelphia, 1983.
- Kreundener R. von: "Isolierung und Bestimmung von *Brucella canis* aus einem Beaglebestand" Zbl. Vet. B. 21:307-310, 1974.
- Mateu-de-Antonio E.M., Martin M.: "In vitro efficacy of several antimicrobial combinations against *Brucella canis* and *B.melitensis* strains isolated from dogs" Veterinary Microbiology 45:1-10, 1995.
- Valente C., Gialletti L., Capua I., Antognoni M.T.: "Brucellosi del cane. Indagine sierologica e batteriologica per *Brucella canis*" Arch. Vet. Ital. 42:3:135-139, 1991.
- Vesco G., Caracappa S., Guercio V.: "Indagine sierologica nei confronti della *Brucella canis* in cani di affezione nella Sicilia occidentale" Giornale Mal. Infettive e Parassitarie 39:5:450-451, 1987.

# METODICA PER LA VALUTAZIONE DELLA VELOCITÀ DI RIASSORBIMENTO DI RIVESTIMENTI BIOATTIVI PER IMPIANTI OSSEI

Gabbi C., Cacchioli A., Ragonieri L.

*Istituto di Anatomia degli Animali Domestici, Università di Parma*

## Introduzione

La riuscita clinica di un impianto è subordinata alla stabilità del rapporto osso-protesi. Fra i diversi tipi di fissazione che vengono utilizzati per migliorare l'interfaccia osso-protesi, vi è la fissazione bioattiva in cui il legame che si crea fra osso e impianto non si limita a forze meccaniche, ma consiste nella formazione di veri legami chimici.

Tale effetto si ottiene rivestendo la protesi con sostanze bioattive come, ad esempio, il biovetro.

Nella maggior parte dei lavori consultati in letteratura (1, 2, 3), viene solitamente effettuata un'analisi quantitativa della superficie di impianto che viene attaccata dall'osso o del processo di riassorbimento e rimaneggiamento che l'osso neoformato può subire nel tempo. Solo in pochi casi (4) viene anche presa in considerazione la velocità di riassorbimento del materiale in vivo, cosa che invece risulta essere molto importante per un giusto equilibrio nello sviluppo dell'osso a livello dell'interfaccia di contatto protesi-osso. Infatti la degradazione e il riassorbimento della struttura vetrosa devono avere un andamento parallelo e inverso alla rigenerazione ossea adeguandosi e stimolando le attività biologiche del tessuto osseo per garantire la stabilità dell'impianto.

In questo lavoro è stata proposta una metodica per valutare il processo di riassorbimento del materiale bioattivo nel tempo tramite un sistema di analisi di immagine computerizzato.

## Materiali e metodi

Lo studio è stato condotto su 12 conigli di razza White New Zealand del peso di  $3,5 \pm 0,2$  Kg in cui sono stati impiantati cilindretti di Titanio ( $TiAl_6V_4$ ) del diametro di 2,3 mm e lunghezza 12 mm, rivestiti da BV sprayzzato di tipo F ( $SiO_2$  5%, CaO 12%,  $Na_2O$  22%,  $K_2O$  7%, MgO 3%,  $P_2O_5$  51%) per uno spessore di  $60 \pm 3$  micron preventivamente sabbati per favorire l'adesione del rivestimento.

La sperimentazione è stata intrapresa per definire una metodica atta alla valutazione della velocità di degradazione del materiale di rivestimento in un modello non corticale e non sottoposto a carico: i provini sono stati posizionati nell'epifisi distale del femore, mediante un foro praticato a livello della gola della troclea, fino a raggiungere il canale midollare. L'operazione è stata effettuata assicurandosi che il provino mantenesse la collocazione di impianto.

Le porzioni ossee contenenti il provino, dopo il prelievo, sono state trattate con le normali tecniche istologiche per l'osservazione dei campioni non decalcificati. Si sono ottenute sezioni trasversali dello spessore di 100 micron attraverso l'uso di un microtomo a lama circolare diamantata Leitz 1600. Le sezioni ottenute sono state osservate al microscopio ottico a luce polarizzata, con e senza l'interposizione della lamina compensatrice (gesso Zeiss) (Foto 1). Per le misure ci si è avvalsi dell'ausilio di un sistema automatico di acquisizione, elaborazione e analisi di immagini (MicroImage, Casti Imaging s.r.l.).

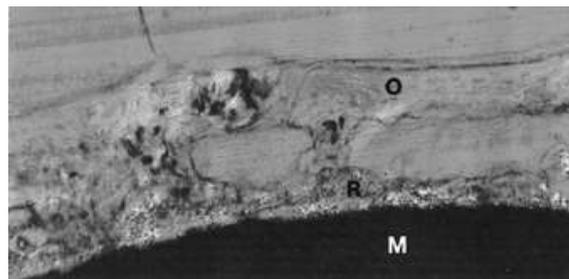


Foto 1. Fotografia a luce polarizzata di una sezione trasversale della zona di impianto. (Ingr. 10X).  
M = Metallo; R = Rivestimento; O = Osso.

E' stato misurato lo spessore del rivestimento dei provini dopo 1 mese, 2 mesi, 4 mesi 6 mesi dall'impianto. Le misure ottenute sono state sottoposte ad analisi statistica (analisi della varianza) per evidenziare differenze nello spessore ai vari tempi di sperimentazione, inoltre è stata effettuata una regressione lineare per valutare la velocità di riassorbimento del materiale nel tempo (correlazione tempo-diminuzione dello spessore).

## Risultati

Lo spessore del rivestimento è stato misurato valutando la distanza fra due rette parallele che vengono posizionate manualmente, in modo da essere tangenti l'una alla superficie del provino (costituito da un cilindretto metallico), l'altra alla superficie del materiale di rivestimento.

Per ogni provino sono state esaminate tre sezioni trasversali praticate a livello dell'epifisi distale del femore, dove è presente osso spugnoso. Per ogni sezione si sono effettuate, per quanto possibile, quattro misurazioni in punti disposti "a croce" come mostrato in figura 1.

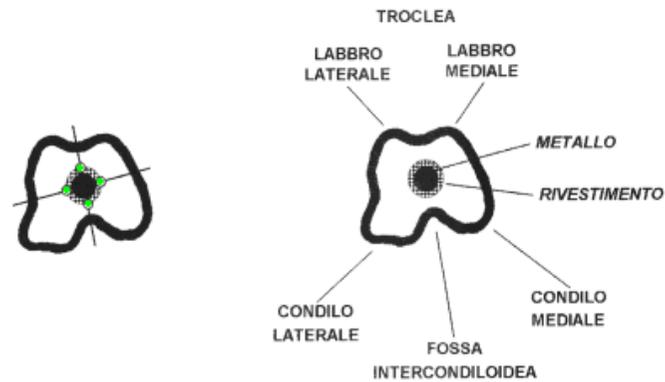
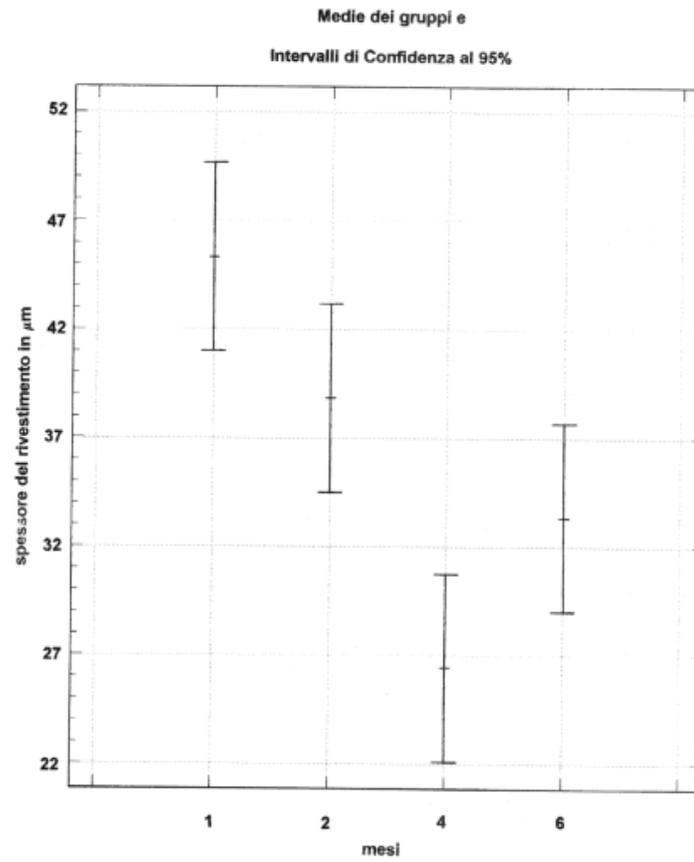


Figura 1. Sezione trasversale della zona di impianto.

●: punti in cui sono state effettuate le misure

I dati relativi alle misure dello spessore del rivestimento di biovetro dopo 1 mese, 2 mesi, 4 mesi e 6 mesi dall'impianto sono stati confrontati tramite l'analisi della varianza ad un criterio di classificazione. Tale test statistico ha rilevato una differenza significativa fra i gruppi, come evidenziabile in figura 2 ( $F=14,05$ ;  $p<0,001$ ).

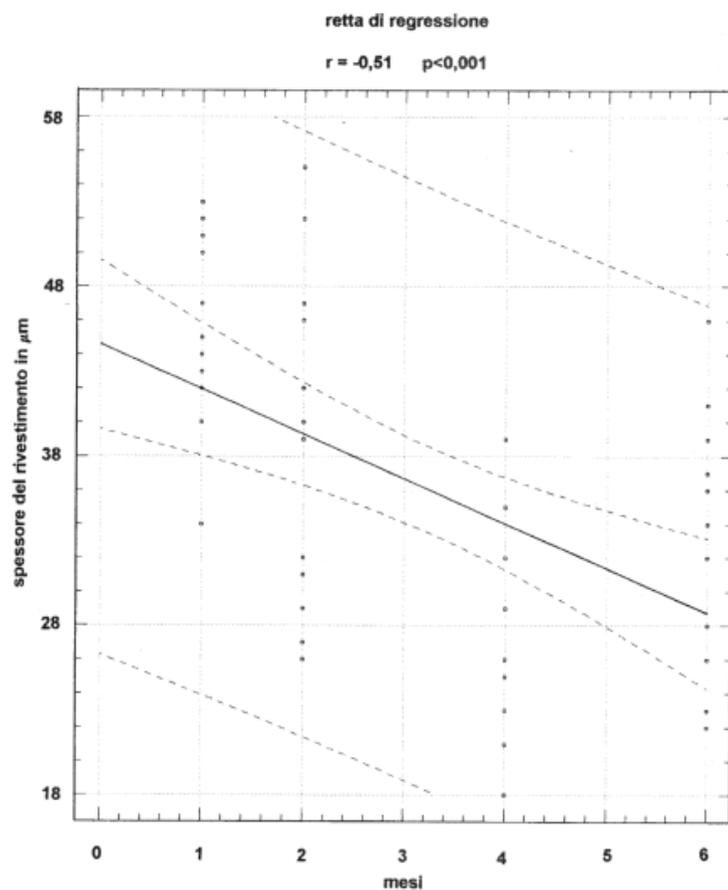


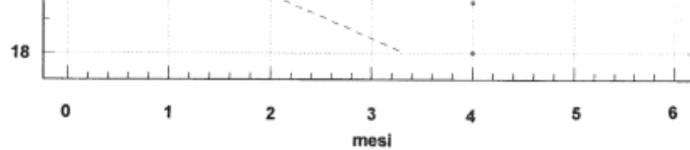
Il successivo test di Tukey, che permette di valutare l'omogeneità fra i gruppi sperimentali, ha messo in evidenza che il gruppo ad 1 mese differisce significativamente dai gruppi a 4 e 6 mesi e che il gruppo a 2 mesi si scosta significativamente dal gruppo a 4 mesi, come è riscontrabile in tabella 1.

**TABELLA 1**

MESI	MEDIA DELLO SPESSORE DEL RIVESTIMENTO ( $\mu\text{m}$ )	INTERVALLI DI CONFIDENZA AL 95%	TEST DI TUKEY (OMOGENEITÀ FRA GRUPPI)
4	26,42	22,09 - 30,74	*
6	33,33	29,01 - 37,66	**
2	38,83	34,51 - 43,16	**
1	45,33	41,00 - 49,66	*

Per apprezzare come le variazioni, evidenziate dall'analisi della varianza, si sviluppano nel tempo, ci è parso utile sottoporre i dati all'analisi della regressione (spessore del rivestimento in biovetro vs. tempo di recupero del provino). L'analisi, vedi figura 3, ha messo in evidenza la progressiva diminuzione dello spessore del rivestimento nel tempo ( $r = -0,51$ ;  $p < 0,001$ ).





## Considerazioni conclusive

Possiamo affermare che la metodologia consente di quantificare la velocità di riassorbimento del rivestimento nel tempo, anche se è opportuno sottolineare vari accorgimenti che devono essere presi in considerazione per tenere alta la qualità dell'analisi statistica, come già sottolineato da altri autori (5). Avendo effettuato un rilevamento manuale per il computo dello spessore del rivestimento, è indispensabile che l'operazione sia eseguita sempre da un solo operatore per eliminare quelle differenze dovute alla variazione interindividuale.

Indispensabile, prima dell'operazione di impianto, è la verifica della qualità e dello spessore del rivestimento, da effettuarsi con gli opportuni strumenti di analisi negli stabilimenti che effettuano il rivestimento. Evitare l'utilizzo di provini provenienti da diversi stabilimenti perchè la differente apparecchiatura introdurrebbe una fonte di variabilità; la stessa cosa accadrebbe utilizzando provini rivestiti con operazioni eseguite in tempi differenti.

Altra fase cruciale è il momento della collocazione del provino nella zona di impianto. L'operazione deve essere svolta con la massima cura per evitare di praticare (vedi il caso della collocazione indicata) un foro troppo ampio e permettere così lo scivolamento del provino lungo il canale midollare. La corretta collocazione del provino consente una facile individuazione di corrispondenti sezioni in diversi campioni, permettendo il confronto fra analoghe zone dell'epifisi distale del femore.

Possiamo quindi sottolineare che la qualità dell'analisi statistica è inversamente proporzionale alla riduzione della variabilità non controllabile; pertanto la sperimentazione deve mirare all'eliminazione o, quantomeno, alla riduzione della variabilità statisticamente non controllabile.

Parole chiave: coniglio, femore; materiali biocompatibili, riassorbimento; microscopia in luce polarizzata, analisi di immagine computerizzata.

Key words: rabbit, femur; biocompatible materials, resorption; polarised light microscopy; image processing, computer assisted.

Riassunto. In questo lavoro viene presentata una metodica per la valutazione del processo di riassorbimento di un materiale bioattivo per il rivestimento di impianti ossei, tramite un sistema di analisi di immagine computerizzato. La velocità di riassorbimento di un materiale bioattivo è un argomento che raramente viene trattato in letteratura, ma che risulta essere di basilare importanza per un giusto equilibrio dello sviluppo dell'osso a livello dell'interfaccia di contatto protesi-osso. Il metodo presentato è in grado di quantificare il processo di riassorbimento nel tempo, per il quale è indispensabile un corretto approccio sperimentale.

Summary. A method, based on a computer-aided image analysis system, for the evaluation of the resorption process of a bioactive material for the coating of bony implants is presented. Only a few authors in the literature deal with the resorbing speed of a bioactive material, but it results to be of fundamental importance for the right balance of the bony growth at the bone-prosthesis interface. The method is able to quantify the resorption process in the time, but it is absolutely necessary a correct experimental approach.

## BIBLIOGRAFIA

1. WILSON J., CLARK A.E., HALL M., HENCH L.L.: Tissue response to Bioglass endosseous ridge maintenance implants. *J. Oral. Implantol.*, 19, 4, 295-302, 1993.
2. HEIKKILA J.T., AHO H.J., YLI-URPO A., HAPPONEN R.P., AHO A.J.: Bone formation in rabbit cancellous bone defects filled with bioactive glass granules. *Acta Orthop. Scand.*, Oct., 66, 5, 463-467, 1995.
3. WHEELER D.L., STOKES K.E., PARK H.M., HOLLINGER J.O.: Evaluation of particulate Bioglass in a rabbit radius osteotomy model. *J. Biomed. Material. Res.*, May, 35, 2, 249-254, 1997.
4. SCHLIEPHAKE H., KLOSA D., RAHLFF M.: Determination of the 3-D morphology of degradable biopolymer implants undergoing in vivo resorption. *Journal of Biomedical Materials Research*, Vol. 27, 991-998, 1993.
5. LIU Z.Q., AUSTIN T., THOMAS C.D.L., CLEMENT J.G.: Bone feature analysis using image processing techniques. *Comput. Biol. Med.*, 26, 1, 65-76, 1996.

# POTENZIALI EVOCATI UDITIVI DEL TRONCO ENCEFALICO NEL CANE E NEL GATTO

Dondi M., Bianchi E.

Università degli Studi di Parma - Facoltà di Medicina Veterinaria - Istituto di Clinica Medica Veterinaria

## Premessa

I recenti sviluppi offerti dalla neurofisiologia clinica umana, ed in particolar modo dalle tecniche di indagine neuro-elettriche, hanno permesso l'introduzione anche in medicina veterinaria di metodiche diagnostiche innovative che permettono lo studio approfondito di lesioni del sistema nervoso degli animali domestici fino ad ora non accessibili all'esame diretto. Tali tecniche, che amplificano le possibilità diagnostiche offerte dall'esame neurologico 'classico', vengono definite Potenziali Evocati. Di questa nuova categoria di esami complementari fanno parte i potenziali evocati auditivi del tronco encefalico, i potenziali somato-sensoriali degli arti anteriori e posteriori, i potenziali visivi ed i potenziali motori. In particolare, l'obiettivo del presente lavoro sarà quello di illustrare l'impiego dei potenziali evocati auditivi del tronco encefalico, di seguito indicati anche con l'acronimo BAEP (brainstem auditory evoked potentials), quale strumento diagnostico in audiologia e neurologia veterinaria, evidenziandone le modalità di esecuzione, l'utilità clinica ed i limiti diagnostici.

## La via acustica

La perdita dell'udito è una patologia molto frequente negli animali domestici. Spesso, però, le forme parziali di sordità non vengono riconosciute dai proprietari o addirittura vengono scambiate con problemi di tipo comportamentale. Inoltre, la sordità parziale è difficilmente diagnosticabile anche dal veterinario per la mancanza di una collaborazione attiva e cosciente da parte dei pazienti. La comprensione di tale patologia e le sue implicazioni diagnostiche richiedono una conoscenza approfondita delle strutture che compongono le vie uditive e delle loro funzioni. L'udito è definito come la trasduzione del suono, energia meccanica ondulatoria, in impulsi neurali trasmessi ed interpretati dal sistema nervoso. Il suono, prima di raggiungere l'orecchio interno, attraversa l'orecchio esterno (padiglione auricolare e canale uditivo esterno) e fa vibrare la membrana del timpano, che separa l'orecchio esterno da quello medio. Il timpano a sua volta trasmette queste vibrazioni alla finestra ovale, tramite la catena degli ossicini (martello, incudine e staffa) e in questo modo l'orecchio medio trasforma ed amplifica le vibrazioni dell'aria in vibrazioni del fluido contenuto nella coclea dell'orecchio interno. Le cellule acustiche, cellule capellute dell'organo di Corti, attraverso un meccanismo piezoelettrico convertono l'energia meccanica delle onde sonore in potenziali elettrici che si propagano come impulsi nervosi lungo le numerose fibre del nervo cocleare verso il ganglio spirale. Il nervo cocleare, che insieme al vestibolare va a costituire l'ottavo nervo cranico, attraversa il meato acustico interno e termina nei nuclei cocleari dorsale e ventrale posti nella giunzione tra ponte e midollo allungato, nei quali è posta la sinapsi con il secondo neurone. Dai nuclei cocleari, poi, le fibre acustiche si portano al lemnisco laterale direttamente o dopo aver contratto sinapsi col nucleo dorsale del corpo trapezoidale (nucleo olivare superiore) e con il corpo trapezoidale. (Giulio, 1992; Jenkins, 1989) (vedi Tab.1).

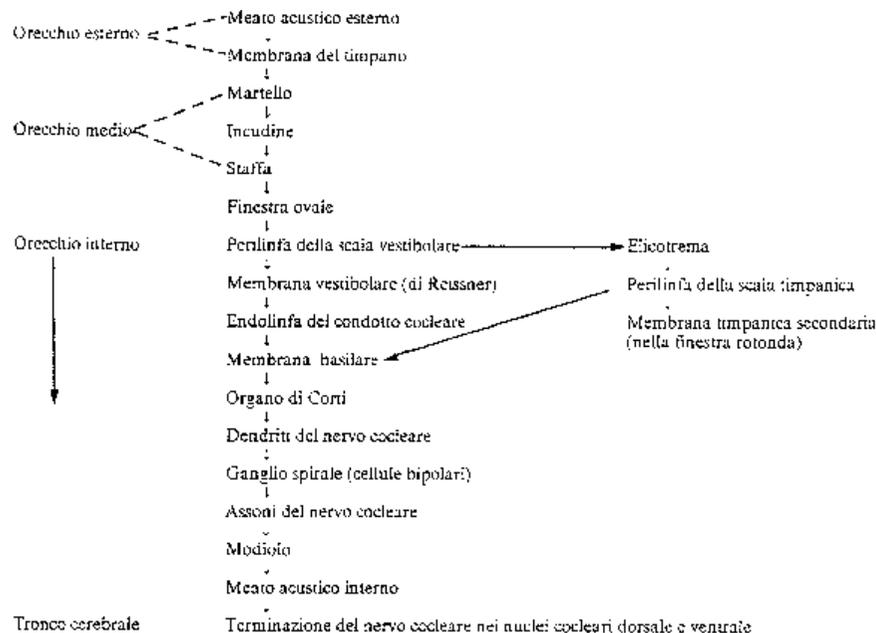


Tabella 1. Schema semplificato delle strutture componenti la via acustica e della loro attivazione sequenziale, dall'orecchio esterno al tronco cerebrale (tratto da: Jenkins, 1989).

Il lemisco laterale, in cui si trovano fibre acustiche sia ipsilaterali che controlaterali, passa attraverso il midollo allungato e il ponte per raggiungere il collicolo caudale (inferiore) del mesencefalo. Alcune di queste fibre contraggono sinapsi con i nuclei del lemisco laterale; altre si incrociano e vanno a terminare nel collicolo caudale controlaterale. Dal collicolo caudale le fibre acustiche si portano al corpo genicolato mediale ipsilaterale del talamo. Poi, dal corpo genicolato di ciascun lato, fibre si dirigono come radiazioni acustiche, attraverso la capsula interna, all'area acustica della corteccia cerebrale che è posta nel lobo temporale (Jenkins, 1989) (vedi Fig.1).

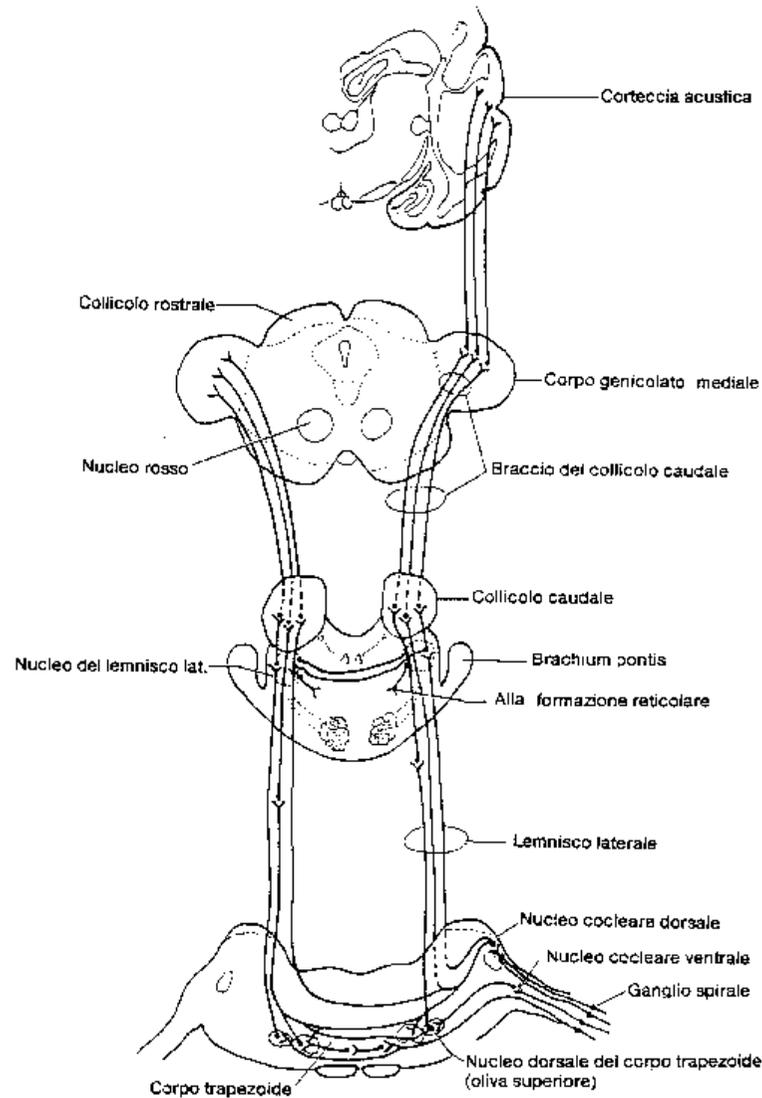


Figura 1. Tavola grafica della via acustica centrale (tratto da Jenkins, 1989).

La trasmissione delle informazioni sonore, dai recettori dell'orecchio interno alla corteccia uditiva, avviene per propagazione di potenziali d'azione di membrana lungo le fibre ed i nuclei nervosi che

compongono la via acustica. Tali potenziali elettrici dinamici influenzando i tessuti circostanti, che si comportano come un volume conduttore, possono essere rilevati anche a distanza sulle superfici più esterne del corpo conservando le loro caratteristiche originarie.

Mediante opportune attrezzature e tecniche, è possibile registrare tale attività elettrica e rappresentarla come una funzione d'onda su di un piano cartesiano; in cui in ordinata vengono indicate le differenze di potenziale elettrico espresse in millivolt, mentre in ascissa i tempi espressi in millisecondi. I tracciati così ottenuti sono composti da una serie di 5-7 onde consecutive, indicate per convenzione con numeri romani da I a VII, che forniscono informazioni sulle strutture anatomiche che le hanno generate.

Esistono apprezzabili differenze di forma fra i tracciati ottenuti dai vari animali, differenze che probabilmente sono dovute proprio alle peculiari conformazioni anatomiche tipiche di ogni specie. Infatti, nell'uomo si ritiene che le onde I e II originino dall'ottavo nervo cranico (Chiappa, 1997), nel cavallo invece la II sarebbe generata in parte dal VIII nervo cranico e in parte dal nucleo cocleare (Mayhew e Washbourne, 1997). Nella scimmia, nel gatto e nel cane solo l'onda I sarebbe prodotta dal VIII nervo cranico (Kawasaki, 1996). Inoltre, nel cane e nel gatto è stato ipotizzato che le onde Ia e Ib (P1a e P1b, secondo la nomenclatura in uso nel gatto), evidenziate impiegando particolari configurazioni monopolari degli elettrodi esploranti, corrisponderebbero rispettivamente alla componente recettoriale dell'ottavo nervo cranico e alla terminazione presinaptica a livello di nucleo cocleare di questo stesso nervo (Kawasaki, 1996; Starr e Zaaroor, 1990; Melcher et al., 1996). L'onda IIa, distinguibile dalla IIb usando la stessa configurazione, rappresenterebbe invece il potenziale postsinaptico originato dal nucleo cocleare; la latenza tra i picchi Ib e IIa ha infatti una durata vicina a quella del ritardo sinaptico (0,5 ms) (Kawasaki, 1996).

L'onda III sembrerebbe essere prodotta, nel cane nel gatto e nell'uomo, nella porzione caudale del ponte dal corpo trapezoide e dal nucleo dorsale del corpo trapezoide (oliva superiore). Le onde IV e V invece originerebbero rispettivamente dalla porzione media e craniale del ponte a livello dei nuclei e dei tratti del lemisco laterale e del collicolo inferiore (Chrisman, 1991; Chiappa, 1997). La vicinanza anatomica tra queste ultime due strutture è probabilmente la causa della frequente sovrapposizione tra le onde IV e V (Marshall, 1985). Le onde VI e VII non sono solitamente impiegate nell'interpretazione clinica, si ritiene comunque che queste siano prodotte rispettivamente dal corpo genicolato mediale e dalle radiazioni acustiche (Chrisman, 1991; Chiappa, 1997) (vedi Fig. 2).

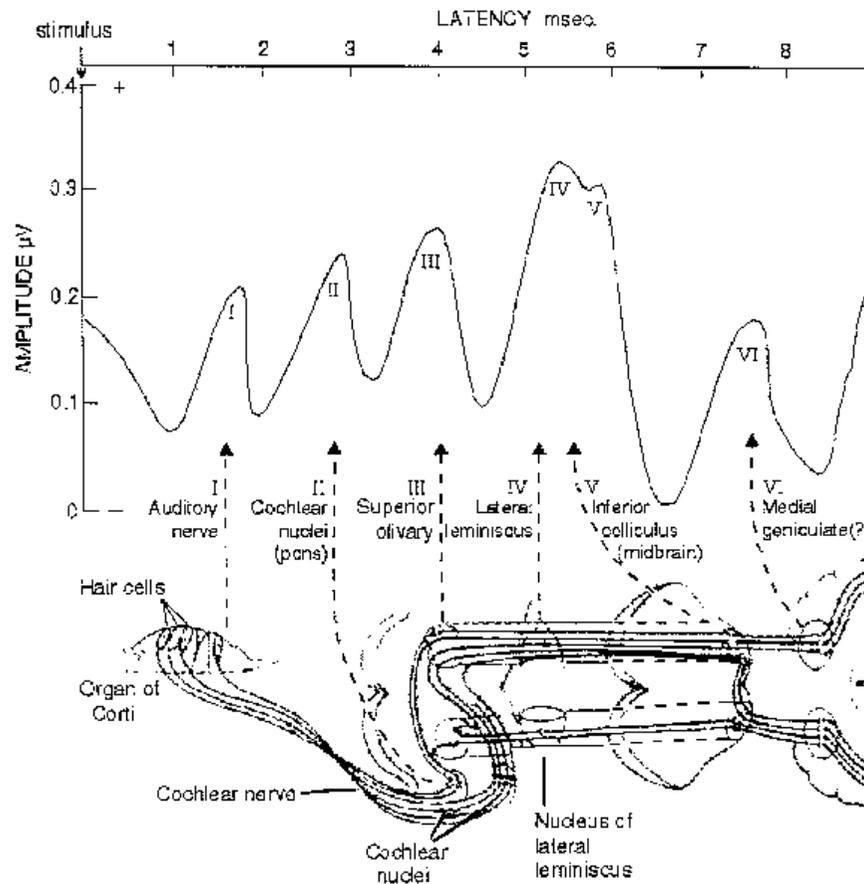


Figura 2. Potenziali evocati auditivi del tronco encefalico (BAEP). Diagramma delle correlazioni elettro-fisiologico-anatomiche proposte nell'uomo (tratto da Adams e Victor, 1985).

Alcuni studi sembrerebbero mettere in discussione la relazione biunivoca tra una certa struttura anatomica e una particolare componente del tracciato BAEP, infatti la maggior parte di questi eventi elettrici deriverebbe dall'attivazione contemporanea di due o più strutture anatomiche appartenenti alle vie uditive (Achor e Starr, 1980; Melcher et al., 1996). Comunque, pur con queste premesse, l'errore di localizzazione dei generatori d'onda non sarebbe superiore ai 10 mm, livello di precisione sicuramente più che sufficiente per obiettivi clinici (Chiappa, 1997).

## Tecnica di esecuzione

### Stimolazione acustica

Al paziente viene fornito uno stimolo acustico (click), ripetuto con una certa frequenza, registrando contemporaneamente i cambiamenti nell'attività elettrica del cervello che vengono evocati da ogni stimolo, e che sono temporalmente legati ad esso. Il risultato della registrazione è un tracciato, formato da una serie di 5-7 onde che descrivono le variazioni del potenziale di campo elettrico in funzione del tempo. Queste onde sono dette 'a breve latenza' (*short latency auditory potentials*), in quanto vengono registrate nei 10 ms successivi alla stimolazione.

Lo stimolo impiegato in questo tipo di test è un suono secco, prodotto inviando un'onda elettrica di tipo rettangolare di 100  $\mu$ sec di durata a una cuffia audiometrica. Si stimola un orecchio per volta, per evitare che, nel caso di patologie che colpiscono un solo orecchio, il tracciato normale generato dall'orecchio sano mascheri le alterazioni dell'orecchio malato. Ciononostante i click di stimolazione raggiungono anche l'orecchio controlaterale, pur con intensità molto ridotta, trasmessi dall'aria e dal tessuto osseo. Per evitare che questa stimolazione incrociata vada ad alterare il tracciato, è consigliabile mascherare l'orecchio controlaterale con un "rumore bianco" di fondo di 30-40 dB inferiore per intensità rispetto allo stimolo impiegato (Chiappa, 1997; Holliday e Te Selle, 1985).

Per ottenere un tracciato significativo è necessario effettuare 2 serie di almeno 500 stimolazioni alla velocità di 10 click al secondo. In alcuni casi è possibile aumentare questa velocità (Marshall, 1985; Shelton et al., 1993), anche se si va incontro ad una progressiva perdita di risoluzione del tracciato associata ad aumenti di latenza e diminuzione di ampiezza delle onde (Chiappa, 1997). L'intensità di stimolazione viene misurata in "decibel normal hearing level" (dB HL). Gli 0 dB HL rappresentano nell'uomo la soglia uditiva media per quello stimolo di un gruppo di persone senza problemi di udito e corrisponde a circa 30 dB SPL (decibel sound pressure level) (Chiappa, 1997). Diversamente, la soglia uditiva del cane viene definita come l'intensità minima di stimolazione in grado di evocare ancora l'onda V evidenziabile sul tracciato BAEP (Steiss et al., 1990). La soglia uditiva media del cane è probabilmente intorno ai -10 dB HL nei soggetti non anestetizzati (Marshall, 1985), mentre può arrivare fino quasi a 50 dB HL nei cani sotto anestesia (Sims, 1990). L'aumento dell'intensità di stimolazione causa un'aumento progressivo dell'ampiezza delle onde e una riduzione della loro latenza assoluta fino ad un livello costante, mentre non cambia in modo significativo la latenza relativa tra i picchi (Bodenhamer et al., 1985; Marshall, 1985; Tokuriki et al., 1990; Sims e Moore, 1984; Kawasaki e Inada, 1994).

Solitamente il test inizia con un'intensità di stimolazione di 90-95 dB HL, e poi si riduce l'intensità di 5-10 dB per volta, fino a raggiungere la soglia uditiva del soggetto.

Il movimento iniziale del diaframma degli auricolari può essere o verso la membrana timpanica (condensation click) o in direzione opposta rispetto ad essa (rarefaction click). La polarità del click (rarefaction o condensation) influenza sia la latenza che la forma delle onde del tracciato. In medicina umana si raccomanda l'uso di "rarefaction click", perchè questa polarità di stimolazione dà origine di solito a tracciati più chiari (Chiappa, 1997). Nel cane si è visto che impiegando i click negativi (rarefaction) si riesce a registrare più spesso l'onda IV e a separare meglio l'onda III dalla IV (Moore et al., 1990; Sims e Moore, 1984), con la modalità "rarefaction" si ha inoltre una riduzione della latenza delle onde e della latenza tra i picchi rispetto alla "condensation" (Kawasaki e Inada, 1994).

In alcune circostanze, come ad esempio quando la risoluzione del tracciato è scarsa si può provare una stimolazione con polarità opposta (condensation); in questo modo si differenzia più facilmente la onda I dai potenziali microfonici cocleari, questi ultimi infatti, al contrario dell'onda I, invertono la polarità quando viene invertita la polarità dello stimolo, probabilmente a causa della loro origine piezoelettrica. In alcuni casi, quando gli artefatti da stimolo o i potenziali microfonici cocleari sono eccessivi, è possibile ridurre alcuni tipi di interferenza alternando la polarità dello stimolo (alternating click). E' comunque sconsigliato l'impiego della modalità alternata come unica polarità perchè può dare origine a fraintendimenti semantici sul tracciato (Chiappa, 1997; Kawasaki e Inada, 1994).

I BAEP possono essere ottenuti anche dalla stimolazione diretta delle ossa del cranio. Questo particolare tipo di stimolazione prevede la presenza di un trasduttore che esercita uno stimolo vibratorio sulle ossa del cranio, che attiva direttamente la coclea "bypassando" l'orecchio esterno e forse anche l'orecchio medio. Pertanto questo tipo di test permette anche di differenziare la sordità da alterata conduzione del suono (conductive deafness) dalla sordità neurosensoriale (sensorineural deafness) (Strain et al., 1993; Munro et al., 1997).

### Elettrodi di Registrazione

La registrazione viene effettuata mediante elettrodi monopolari ad ago infissi nel sottocute. Questi elettrodi vengono indicati come "di riferimento" ed "esplorante" e vengono posizionati rispettivamente al vertice del cranio (Vertex o Cz) e all'estremità caudodorsale dell'arco zigomatico ipsilaterale rispetto all'orecchio stimolato, subito davanti alla pinna auricolare (Ai). Ai (-) Vertex (+) è una derivazione bipolare ed è la configurazione di base ai fini dell'interpretazione clinica dei BAEP; è comunque possibile, avendo a disposizione altri canali di registrazione, impiegare contemporaneamente anche altre configurazioni. A questo proposito può essere utile associare l'elettrodo al Vertex (+) anche a uno in posizione non cefalica (-), ottenendo una derivazione monopolare. E' stato infatti osservato nel cane che con una derivazione Nape (proiezione cutanea del processo spinoso di C4) - Vertex è possibile evidenziare i picchi aggiuntivi Ia, Ib, IIa e IIb (Kawasaki, 1996) (vedi figg. 3 e 4).

Patient Canex  
Note

Age 1 Sex m ID-No Meticcio Doctor Dondi

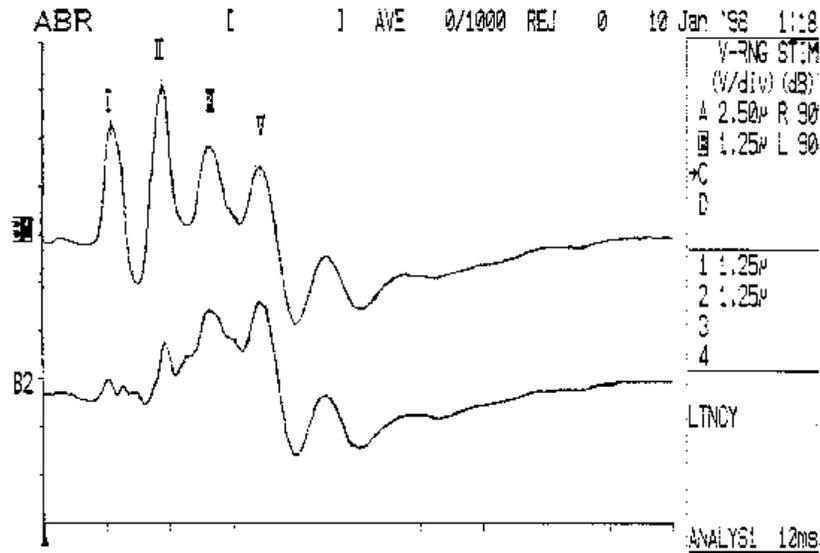


Figura 3. Esempio di tracciato BAEP normale di cane. Sono in evidenza le onde I, II, III e V.

Patient gatto  
Note Esame fatto su  
gatto normale

Age ? Sex m ater ID-No Doctor BIANCHI

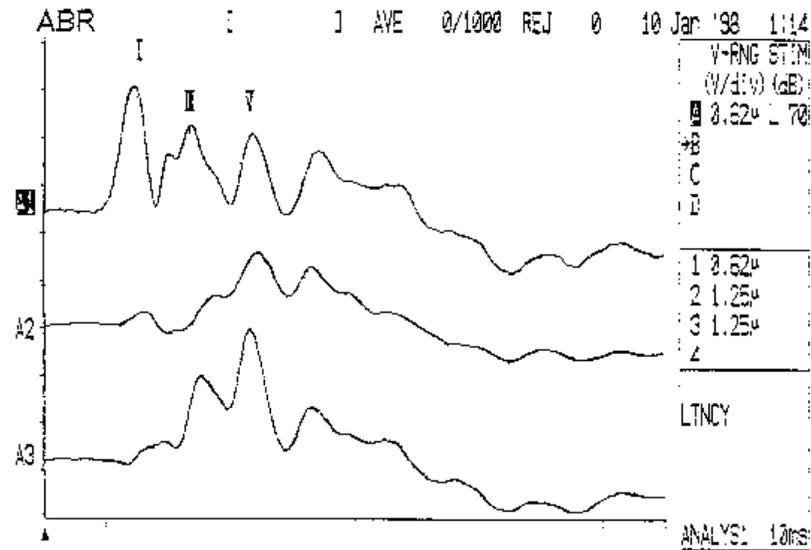


Figura 4. Esempio di tracciato BAEP normale di gatto. Sono in evidenza le onde I, III e V.

Impiegando configurazioni di questo tipo si riscontra un simile sdoppiamento delle prime due onde anche nel gatto (Starr e Zaaroor, 1990; Melcher et al., 1996). Altre configurazioni utilizzabili sono Ac-Vertex e Ai-Ac, nelle quali l'elettrodo Ac si trova nella stessa posizione di Ai ma nell'orecchio controlaterale a quello stimolato (Moore et al., 1990).

Per la terra si utilizzano di solito degli elettrodi ad ago uguali a quelli impiegati per la registrazione, e come questi vengono infissi nel sottocute. L'elettrodo di terra può essere posizionato sia a livello cefalico che extracefalico e serve per ridurre gli artefatti dovuti all'attività muscolare.

La registrazione dei BAEP migliora quando si impiega un'amplificazione compresa fra le 200,000 e le 500,000 volte e quando la regolazione dei filtri è mantenuta su valori di 3 kHz per le alte frequenze e di 30-100 Hz per le basse frequenze.

In particolari circostanze, qualora il "rumore elettrico corporeo" sia eccessivo a causa di contrazioni muscolari involontarie può essere attivato anche un sistema di reiezione degli artefatti. Il tempo di registrazione della traccia viene mantenuto sempre su 10 ms (Chiappa, 1997).

Il test può essere effettuato su soggetti sedati (Munro et al., 1997; Kay et al., 1984; Marshall, 1985; Pook e Steiss, 1990; Tokuriki et al., 1990; Sims e Moore, 1984; Morgan et al., 1980), anestetizzati, o svegli, purchè siano ridotte al minimo le interferenze dovute alle contrazioni muscolari (Knowles et al., 1988; Bodenhamer et al., 1985; McAnulty et al., 1995; Holliday e Te Selle, 1985; Tokuriki et al., 1990).

#### Parametri misurati

Per utilità clinica i parametri che al momento della registrazione devono essere presi in considerazione sono: la soglia uditiva del soggetto, la latenza e l'ampiezza delle onde.

Nel cane la soglia uditiva, espressa in dB, viene definita come la più bassa intensità di stimolazione in grado di dare origine all'onda V (Steiss et al. 1990); la latenza di una data onda invece è il tempo, espresso in ms, che intercorre dall'applicazione dello stimolo all'insorgenza del picco positivo dell'onda, che per convenzione con le polarità delle configurazioni degli elettrodi utilizzate è rivolto verso l'alto; l'ampiezza dell'onda, espressa in mV, si misura dal suo picco positivo al picco negativo successivo (Kawasaki e Inada, 1994).

Sempre facendo riferimento alla latenza va considerata sia la latenza assoluta delle varie onde, sia le latenze relative tra i picchi o interpicco, soprattutto tra I e V (IPL; interpeak latencies), e la loro differenza fra le due orecchie (DIPL; differential interpeak latencies) (Kawasaki e Inada, 1994; Sims e Moore, 1984).

Le ampiezze assolute delle onde sono troppo variabili per un impiego clinico, mentre più utile da questo punto di vista è il rapporto tra le ampiezze delle onde I e V (I/V)(Chiappa, 1997; Kawasaki e Inada, 1994; Marshall, 1985). Oltre a questi parametri, di una certa utilità nella pratica clinica può essere anche lo studio della curva latenza-intensità, soprattutto per differenziare la sordità da alterata conduzione da quella neurosensoriale (Chiappa, 1997; Steiss et al., 1990).

#### Tracciato normale

I tracciati normali nel cane e nel gatto appaiono abbastanza simili a quelli registrati nell'uomo e negli altri mammiferi domestici, con una serie di onde aventi 5-7 picchi positivi principali, come mostrati nelle figure 3 e 4. Questi picchi positivi, come abbiamo visto, vengono solitamente indicati con i numeri romani nel cane e nell'uomo, mentre nel gatto alcuni autori usano indicarli con la lettera P seguita da un numero arabo; classificazione che permette di differenziare i picchi positivi dai negativi indicati con la lettera N.

Al fine di identificare correttamente le onde è importante conoscere gli intervalli normali di latenza (vedi tab.2) e l'ampiezza relativa delle diverse onde. Impiegando le tecniche di stimolazione e registrazione più comuni, nei tracciati BAEP del cane le onde più evidenti, cioè a maggior ampiezza, risultano in ordine decrescente la I, la V e la II, seguite dalle onde III, IV e VI. Fra queste l'onda V è forse la più riconoscibile perchè è seguita da un profondo picco negativo che la rende caratteristica (Sims e Moore, 1984; Bodenhamer et al., 1985; Sims, 1990). A volte per identificare correttamente la prima onda può rivelarsi utile modificare il tipo di stimolazione, rarefazione piuttosto che condensazione, al fine di invertire la polarità dei potenziali microfonici auricolari; evento di natura piezoelettrica che da l'inizio all'attivazione dell'ottavo nervo cranico e quindi alla generazione della prima onda.

Autori (anno)	Latenze onde/picchi ms (SD)					Configurazione elettrodi	dB HL (polarità)
	I	II	III	IV	V		
Kay et al. (1984) <sup>1</sup>	1,25 1,26				3,78 3,74	Ai-Vertex	80 (?)
Sims e Moore <sup>2</sup> (1984)	1,21 (±0,02) 1,22 (±0,01)	2,00 (±0,02) 2,04 (±0,02)	2,3 (±0,05) 2,85 (±0,08)		3,65 (±0,06) 3,82 (±0,09)	Ai-Vertex	90 (A) 60 (R)
Marshall (1985)	1,20 (±0,14)	2,05 (±0,15)	2,72 (±0,15)	3,3 (±0,25)	3,70 (±0,24)	Ai-Vertex	
Bodenhamer et al. (1985)	1,49 (±0,13)	2,32 (±0,14)	3,01 (±0,25)		4,22 (±0,27)	Ai-Vertex	60 (R) 84 dB SL
Knowles et al. <sup>1</sup> (1988)	0,96 (±0,04) 0,90 (±0,05)	1,82 (±0,56) 1,82 (±0,05)	2,58 (±0,21) 2,48 (±0,18)		3,61 (±0,23) 3,57 (±0,18)	Ai-Vertex	
Pook e Steiss <sup>3</sup> (1990)	1,41 (±0,03) 1,43 (±0,01)	2,22 (±0,04) 2,24 (±0,01)	2,79 (±0,05) 2,91 (±0,02)	3,27 (±0,06) 3,37 (±0,03)	3,59 (±0,04) 3,83 (±0,02)	Ai-Nasion	60 (R)
Tokuniki et al. <sup>4</sup> (1990)	1,05 (±0,05) 1,04 (±0,04)	1,90 (±0,03) 1,95 (±0,03)	2,60 (±0,05) 2,62 (±0,04)		3,52 (±0,04) 3,60 (±0,09)	Axis-Vertex	80 (A)
Kawasaki e Inada (1994)	1,00 (±0,04) 0,96 (±0,07)	1,78 (±0,05) 1,77 (±0,05)	2,62 (±0,07) 2,59 (±0,10)	2,97 2,90	3,35 (±0,09) 3,35 (±0,09)	Ai-Vertex Nape-Vertex	90 (R)
Eger e Lindsay (1997)	1,18 (±0,09)	2,07 (±0,15)	2,83 (±0,24)		3,85 (±0,27)	Ai-Vertex	75 (A)

Tabella 2. Intervalli normali di riferimento per le latenze delle onde dei BAEP nel cane e Autori dai quali sono stati riportati.

<sup>1</sup>Vengono riportati separatamente i valori nelle due orecchie. <sup>2</sup>Valori registrati da svegli (in alto) e sotto anestesia (in basso). <sup>3</sup>Le latenze in alto si riferiscono a cani con lunghezza del cranio 5-8 cm, quelle in basso a soggetti con cranio >8 cm. <sup>4</sup>Sono riportate le latenze ottenute impiegando due protocolli anestetici diversi.

Esiste una certa variabilità individuale nei tracciati normali anche all'interno della stessa specie. Tra le variazioni più evidenti possiamo ricordare lo sdoppiamento, la fusione parziale o totale tra due onde e lievi variazioni delle loro latenze. L'onda IV in particolare si presenta spesso fusa, in modo parziale o totale, alla V o alla III (Marshall, 1985; Sims e Moore, 1984).

Questa variabilità, che comunque non influenza la leggibilità e la comparazione dei tracciati, è probabilmente dovuta, oltre che a caratteristiche individuali dei soggetti (età, sesso, taglia e temperatura corporea) anche a differenze di intensità, di velocità, di polarità di stimolazione e di posizionamento degli elettrodi (Holliday e Te Selle, 1985). Tra i parametri soggettivi che più influenzano il tracciato sono la taglia (soprattutto le dimensioni del cranio) e la temperatura corporea; infatti i cani con il cranio più grosso così come quelli con temperatura più bassa hanno latenze maggiori (Pook e Steiss, 1990; Marshall, 1985; Bodenhamer et al., 1985).

Al riguardo, nell'uomo è stato osservato un aumento del tempo di latenza assoluta dell'onda V di 0,17 ms per ogni grado centigrado di diminuzione della temperatura corporea fra i 39 ed i 32,5 °C e tali considerazioni sembrano applicabili anche agli animali (Chiappa, 1997).

La registrazione dei tracciati BAEP è particolarmente "resistente" alle influenze date dai vari farmaci sedativi ed anestetici. Nei cani e nei gatti è stato provato che le latenze interpicco dei tracciati non sono modificate da dosi terapeutiche di farmaci depressivi l'attività del sistema nervoso centrale, quali: pentobarbital, ketamina, alotano, isofluorano, cloralosio, benzodiazepine, fenotiazepine, e neppure da dosi di pentobarbital tali da rendere isoelettrica l'attività encefalica registrata mediante EEG (coma farmacologico). Le piccole variazioni talvolta riscontrate sono da imputare ad alterazioni della temperatura corporea (Chiappa, 1997).

#### Indicazioni cliniche dei BAEP

Attualmente, il maggior impiego clinico dei BAEP in Audiologia e Neurologia Veterinaria è rivolto alla diagnosi delle differenti forme di sordità e di alcune malattie neurologiche correlate.

Dal punto di vista clinico è possibile classificare le alterazioni d'udito dei cani e dei gatti in due categorie principali: sordità periferiche e centrali. Le prime, che sono di gran lunga le più frequenti negli animali domestici, sono dovute a lesioni della porzione periferica della via acustica, mentre le seconde sono provocate da lesioni retrococleari, estremamente rare nella forma pura.

Un'ulteriore suddivisione delle sordità periferiche fa ricorso a tre paia di descrittori, infatti esse possono essere ereditarie o acquisite, connatali o ad insorgenza tardiva, neurosensoriali o conduttive. Teoricamente la combinazione di queste tre coppie di caratteri dovrebbe dare origine ad otto diversi tipi di sordità periferica, mentre in pratica nei cani e nei gatti sono osservabili con una discreta frequenza solamente tre di queste forme: la sordità neurosensoriale connatale ereditaria, la neurosensoriale acquisita tardivamente e la conduttiva acquisita tardivamente.

La prima è spesso associata al gene responsabile della pigmentazione bianca del pelo; la seconda si osserva in caso di ototossicità, vecchiaia (presbiacusia) e otite interna; la terza, invece, è

riferibile a otiti del tratto medio od esterne, oppure ad eccesso nella produzione di cerume. In alcune rare circostanze, come quelle osservabili in caso di malformazioni intrauterine, dovute a infezioni, tossicosi od anossia, è possibile osservare sordità sia neurosensoriali sia conduttive di tipo congenita.

La rarità delle forme di sordità centrale primaria dipende dal fatto che le vie che conducono le informazioni acustiche tendono a fondersi, sia anatomicamente sia funzionalmente, rostralmente ai nuclei cocleari. Pertanto, lesioni superiori a tale livello è quasi impossibile che producano sordità centrale monolaterale, mentre forme complete bilaterali necessitano di estese lesioni del tronco encefalico o del mesecefalo, oppure di una lesione bilaterale della corteccia auditiva. Questi ultimi tipi di sordità sono sempre accompagnati da segni neurologici di una certa gravità.

#### Sordità neurosensoriale congenita

Questo tipo di sordità non è evidenziabile clinicamente fino alle prime 3-4 settimane di vita, sia per motivi anatomici, il canale uditivo si apre approssimativamente al 14 e al 5 giorno di vita rispettivamente nei cani e nei gatti, sia per motivi comportamentali, infatti spesso i cuccioli in questo periodo sono lasciati esclusivamente alle cure parentali.

Sono colpite diverse razze di cani e di gatti, ma la maggiore prevalenza si osserva nei cani di razza Dalmata, Bull Terrier, Setter Inglesi e Cocker Spaniel. Fra i gatti sono colpiti quelli di razze aventi il mantello di colore bianco.

Il quadro istopatologico che si osserva nella maggior parte dei casi è conosciuto come degenerazione cocleo-saculare o di Scheibe ed è un tipo di degenerazione permanente ed irreversibile. Nei soggetti che raggiungono maggiore età possono essere associate anche ipotrofia delle regioni uditive corticali e delle strutture della via acustica. Tale situazione però si ritiene dovuta non tanto ad un fatto degenerativo quanto ad un mancato sviluppo per assenza di stimoli (Knowles et al., 1988; Shelton et al, 1993; Steiss et al., 1990; Sims, 1990; Strain,1996).

#### Sordità di conduzione

La sordità dovuta difetti di conduzione, che colpisce tutte le specie animali senza una particolare predisposizione genetica, può essere il risultato di diverse situazioni patologiche; fra le più frequenti devono essere annoverate le otiti croniche medie ed esterne, per stenosi ed occlusione del canale uditivo esterno, oppure per accumulo di un'eccessiva quantità di cerume. Mentre più raramente si possono osservare anomalie di sviluppo degli ossicini (fusione), assenza del canale uditivo ed otosclerosi. A volte si osserva anche una assenza congenita della membrana timpanica, anche se stranamente questa alterazione non produce sordità clinicamente evidente (Strain,1996).

#### Ototossicità

Gli agenti ototossici possono causare perdita d'udito per effetti diretti sulle cellule capellute sia cocleari sia vestibolari, o per lesioni primarie alle strie vascolari con perdita secondaria delle stesse cellule capellute. Molti farmaci usati di routine in medicina veterinaria possono provocare questi tipi di lesioni, ma in particolare quelli ritenuti maggiormente responsabili per frequenza e gravità sono gli antibiotici aminoglicosidi (soprattutto gentamicina e streptomina), i quali possono provocare danni gravi e scarsamente reversibili ai sistemi cocleare e vestibolare.

Clinicamente in alcune circostanze i cani ed i gatti colpiti manifestano alterazioni comportamentali che possono essere riferite a quelle che nell'uomo seguono il fenomeno del tinnito (percezione di suoni ad alta frequenza inesistenti), con nervosismo e ricerca continua della provenienza del suono (Steiss et al., 1990; Sims, 1990; Morgan et al., 1980; Tokuriki et al., 1990; Strain et al., 1995; Merchant et al., 1993).

#### Presbiacusia

La presbiacusia è la progressiva perdita d'udito associata a vari tipi di disfunzioni che accompagnano l'invecchiamento e non deve essere confusa con le precedenti condizioni. Le alterazioni di questo tipo, che più frequentemente colpiscono i cani ed i gatti, sono quelle neurosensoriali, benchè spesso associate anche ad una diminuita flessibilità del timpano e delle articolazioni degli ossicini. Anche se questa forma ha uno sviluppo progressivo, spesso è percepita dal proprietario in modo acuto al raggiungimento della sordità completa, momento in cui il cane od il gatto non riescono più a compensare la funzione uditiva con gli altri sensi. I sintomi associati a questa forma sono modesti, infatti gli animali nei primi tempi si limitano a scuotere la testa, come se avessero un corpo estraneo nel condotto uditivo, mentre successivamente si adattano alla sensazione (Knowles et al., 1988).

#### Altre condizioni patologiche

Altre condizioni patologiche osservabili meno frequentemente, ma che comunque possono provocare sordità periferica nel cane e nel gatto sono l'anossia tissutale, l'anestesia, i traumi e le infezioni, quali otiti interne e meningiti (Strain,1996).

Le alterazioni dei tracciati BAEP in caso di sordità completa dovuta ai suddetti problemi periferici sono riferibili ad assenza completa dell'onda I a carico dell'orecchio interessato, così come di tutte le onde che normalmente la dovrebbero seguire. Nella sordità periferica parziale, come quella osservata in corso di presbiacusia o di ototossicosi, l'onda I è ancora visibile ma presenta una latenza di comparsa dallo stimolo aumentata ed una ridotta ampiezza.

Nel caso in cui si sospetti un tipo di sordità da alterata conduzione del suono, è possibile eseguire il test utilizzando uno stimolatore osseo in sostituzione dello stimolatore acustico. La stimolazione ossea, che avviene generalmente a livello del processo mastoideo, permette alle vibrazioni prodotte di raggiungere le strutture cocleari senza passare per l'orecchio medio. I tracciati ottenuti sono sovrapponibili a quelli ottenuti con la stimolazione acustica ma con un lieve spostamento a sinistra della onde.

Per quel che riguarda lo studio delle malattie del sistema nervoso centrale, tale test ha dimostrato una buona sensibilità nella diagnosi precoce di neoplasie intracraniche con interessamento del tronco encefalico (Fischer e Obermaier, 1994) e nella diagnosi e caratterizzazione degli infarti del tronco encefalico nel cane (Uno et al, 1988).

Le anomalie dei tracciati BAEP in tali circostanze, pur non fornendo informazioni eziologiche possono fornire preziose indicazioni sulla localizzazione della lesione all'interno del sistema nervoso centrale. Infatti, un'aumento del tempo di latenza interpicco fra le onde I e III (IPL I-III) suggerisce la presenza di un difetto di conduzione del sistema uditivo all'interno del tronco encefalico, tra la porzione prossimale del VIII Nervo Cranico ed il limite posteriore del ponte. Mentre, un'aumento della latenza fra le onde III e V (IPL III-V) presuppone un difetto di conduzione del sistema uditivo del tronco encefalico fra la porzione caudale del ponte e il mesecefalo.

## Conclusioni

I potenziali evocati auditivi sono una tecnica nuova ma di estrema utilità per il veterinario, poichè permette di ottenere informazioni oggettive di funzioni nervose difficilmente indagabili attraverso le normali procedure cliniche. Comunque, pur essendo una tecnica da poco introdotta nella pratica clinica veterinaria e che necessita ancora di studi per poter giungere ad una completezza operativa, dispone già di un paradigma semeiologico che permette di affrontare le più frequenti situazioni patologiche che colpiscono il sistema uditivo degli animali domestici. Inoltre, sono già in corso studi sulle possibili applicazioni nei confronti di varie malattie di estrema attualità nella ricerca biomedica, quali le patologie degenerative croniche del sistema nervoso centrale (malattie prioniche) e le alterazioni neurologiche presenti nello stato di coma, nel dolore e nella morte cerebrale.

I limiti principali di questo esame risiedono attualmente negli elevati costi dell'attrezzatura e nella difficoltà di formare personale altamente qualificato in grado di poterla utilizzare. Per questo motivo questo tipo di prestazione medica al giorno d'oggi è disponibile esclusivamente presso centri di referenza specializzati in Audiologia e Neurofisiologia Clinica con funzioni sia di ricerca sia di consulenza per i veterinari liberi professionisti.

## BIBLIOGRAFIA

- ACHOR L.J., STARR A.: Auditory brain stem responses in the cat. I. Intracranial and extracranial recordings. *Electroenceph. clin Neurophysiol.* 48: 154-173, 1980.
- ADAMS R.D., VICTOR M.: Principles of Neurology, 3rd ed., McGraw-Hill, New York, 1985.
- BODENHAMER R.D., HUNTER J.F., LUTTGEN P.J.: Brain stem auditory-evoked responses in the dog. *Am. J. Vet. Res.*, 46: 1787-1792, 1985.
- CHIAPPA K.H.: Brain Stem Auditory Evoked Potentials: Methodology. In: *Evoked Potentials in Clinical Medicine*, 3rd ed., Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, 1997.
- CHRISMAN C.L.: Deafness and alterations in hearing. In: *Problems in Small Animal neurology*, 2nd ed., Lea & Febiger, Philadelphia, 1991.
- DELAUCHE A.J.: Brain-stem evoked responses as a diagnostic tool for deafness; a neurophysiological test with potential?. *Br. Vet. J.*, 152: 13-15, 1996.
- EGER C.E., LINDSAY P.: Effects of otitis on hearing in dogs characterised by brainstem auditory evoked response testing. *Journal of Small Animal Practice*, 38: 380-386, 1997.
- FISCHER A., OBERMAIER G.: Brainstem auditory-evoked potentials and neuropathologic correlates in 26 dogs with brain tumors. *J. Vet. Intern. Med.*, 8: 363-369, 1994.
- GIULIO L.F.: Organi di senso. In Aguggini G., Beghelli V., Giulio L.F., (Eds.): *Fisiologia degli Animali Domestici con Elementi di Etologia*, UTET, Torino, 1992.
- HOLLIDAY T.A., TE SELLE M.E.: Brain stem auditory-evoked potentials of dogs: Wave forms and effects of recording electrode positions. *Am. J. Vet. Res.*, 46: 845-851, 1985.
- Jenkins T.W.: *Neuroanatomia Funzionale dei Mammiferi*, Edizioni Agricole, Bologna, 1989.
- KAWASAKI Y.: Extra- and Intracranial Components Contributing to Brain Stem Auditory Evoked Potentials in Dogs and the Binaural Interaction. *P.V.N.*, 7: 153-158, 1996.
- KAWASAKI Y., INADA S.: Peaks of brainstem auditory evoked potentials in dogs. *Veterinary Research Communications*, 18: 383-396, 1994.
- KAY R., PALMER A.C., TAYLOR P.M.: Hearing in the dog as assessed by auditory brainstem evoked potentials. *The Veterinary Record*, 114: 81-84, 1984.
- KNOWLES K.E., CASH W.C., BLAUCH B.S.: Auditory-evoked Responses of Dogs with Different Hearing Abilities. *Can. J. Vet. Res.*, 52: 394-397, 1988.
- MARSHALL A.E.: Brain stem auditory-evoked response of the nonanesthetized dog. *Am. J. Vet. Res.*, 46: 966-973, 1985.
- MARSHALL A.E.: Use of brain stem auditory-evoked response to evaluate deafness in a group of Dalmatians dogs. *J.A.V.M.A.*, 188: 718-722, 1986.
- MAYHEW I.G., WASHBOURNE J.R.: Brainstem Auditory Evoked Potentials in Horses and Ponies. *The Veterinary Journal*, 153: 107-113, 1997.
- McANULTY J.F., HATTEL A., HARVEY C.E.: Wound healing and brain stem auditory evoked potentials after experimental total ear canal ablation with lateral tympanic bulla osteotomy in dogs. *Veterinary Surgery*, 28: 1-8, 1995<sup>1</sup>.
- McANULTY J.F., HATTEL A., HARVEY C.E.: Wound healing and brain stem auditory evoked potentials after experimental ventral tympanic bulla osteotomy in dogs. *Veterinary Surgery*, 28: 9-14, 1995<sup>2</sup>.
- MELCHER J.R., GUINAN J.J. Jr, KNUDSON I.M., KIANG N.Y.: Generators of brainstem auditory evoked potential in cat. II. Correlating lesion sites with waveform changes. *Hear. Res.* 93: 28-51, 1996.
- MERCHANT S.R., NEER T.M., TEDFORD B.L., TWEDT A.C., CHERAMIE P.M., STRAIN G.M.: Ototoxicity Assessment of a Chlorhexidine Otic Preparation in Dogs. *P.V.N.*, 4: 72-75, 1993.
- MORGAN J.L., COULTER D.B., MARSHALL A.E., GOETSCH D.D.: Effects of Neomycin on the Waveform of Auditory-Evoked Brain Stem Potentials in Dogs. *Am. J. Vet. Res.*, 41: 1077-1081, 1980.
- MOORE M.P., FISHER D.J., GAVIN P.R., BARBEE D.D.: Effects of electrode position and stimulus polarity on brain stem auditory evoked responses in dogs. *P.V.N.*, 1: 461-472, 1990.
- MUNRO K.J., PAUL B., COX C.L.: Normative auditory brainstem response data for bone conduction in the dog. *Journal of Small Animal Practice*, 38: 353-356, 1997.
- PHILLIPS T. R., PROSPERO-GARCIA O., PUAOI D.L., LERNER D.L., FOX H.S., OLMSTED R.A., BLOOM F.E., HENRIKSEN S.J., ELDER J.H.: Neurological abnormalities associated with feline immunodeficiency virus infection. *Journal of General Virology*, 75: 979-987, 1994.
- POOK H.A., STEISS J.E.: Correlation of brain stem auditory-evoked responses with cranium size and body weight of dogs. *Am. J. Vet. Res.*, 51: 1779-1783, 1990.
- SHELTON, STOCKARD-POPE, CHRISMAN, NICHOLS, SHEPHERD: Brain stem auditory- evoked responses to clicks and tone bursts in notched noise in dalmatian puppies. *P.V.N.*, 4: 31, 1993.
- SIMS M.H.: Evoked Response Audiometry in Dogs. *P.V.N.*, 1: 275-283, 1990.
- SIMS M.H., MOORE R.E.: Auditory-evoked response in the clinically normal dog: Early latency components. *Am. J. Vet. Res.*, 45: 2019-2027, 1984.
- SIMS M.H., SHULL-SELGER E.: Electrodiagnostic evaluation of deafness in two English Setter littermates. *J.A.V.M.A.*, 187: 398-404, 1985.
- STARR A., ZAAROOOR M.: Eight nerve contributions to cat auditory brainstem responses (ABR). *Hear. Res.*, 48: 151-160, 1990.
- STEISS J.E., WRIGHT J.C., STORRS D.P.: Alterations in the Brain Stem Auditory Evoked Response Threshold and Latency-Intensity Curve Associated with Conductive Hearing Loss in Dogs. *P.V.N.*, 1: 205-211, 1990.
- STRAIN G.M.: Brainstem auditory evoked potentials in veterinary medicine. *Br. vet. J.*, 148: 275-279, 1992.
- STRAIN G.M.: Aetiology, prevalence and diagnosis of deafness in dogs and cats. *Br. Vet. J.*, 152: 17-37, 1996.
- STRAIN G.M., TEDFORD B.L., JACKSON R.M.: Postnatal development of the brain stem auditory-evoked potential in dogs. *Am. J. Vet. Res.*, 52: 410-415, 1991.
- STRAIN G.M., GREEN K.D., TWEDT A.C., TEDFORD B.L.: Brain stem auditory evoked potentials from bone stimulation in dogs. *Am. J. Vet. Res.*, 54: 1817-1821, 1993.
- STRAIN G.M., MERCHANT S.R., NEER T.M., TEDFORD B.L.: Ototoxicity assessment of a gentamicin sulfate otic preparation in dogs. *Am. J. Vet. Res.*, 56: 532-538, 1995.
- TOKURIKI M., MATSUNAMI K., UZUKA Y.: Relative effects of xylazine-atropine, xylazine-atropine-ketamine, and xylazine-atropine-pentobarbital combinations and time-course effects of the latter two combinations on brain stem auditory-evoked potentials in dogs. *Am. J. Vet. Res.*, 51: 97-102, 1990.
- UNO J., KUWABARA S., FUKUDA M., ISHIKAWA S.: Experimental study of brain stem infarction in dogs: effect on BAEP, SSEP, blink reflex and EEG of perforator occlusion. *No. To. Shinkei*, 40: 993-999, 1988.

## BENESSERE ANIMALE E SPERIMENTAZIONE

Signorini G.<sup>1</sup>, Biagi G.<sup>2</sup>, Nannipieri S.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Istituto di Ispezione degli Alimenti di Origine Animale - Facoltà di Medicina Veterinaria - Università di Parma

<sup>2</sup>Istituto di Clinica Medica - Facoltà di Medicina Veterinaria - Università di Pisa

<sup>3</sup>Dottore di Ricerca in Normative dei Paesi della CEE relative al benessere ed alla protezione animale

Lavoro eseguito con fondi di Ateneo dell'Università di Pisa.  
Il lavoro spetta in parti uguali agli Autori.

### Premessa

In questi ultimi anni, il problema della sperimentazione animale è stato molto dibattuto, dando luogo, in molte occasioni a fenomeni di intolleranza da parte di gruppi di animalisti piuttosto accesi. Tale divergenza si basa in parte sulla disinformazione dimostrata nel confondere la sperimentazione animale con la vivisezione come sull'uso improprio degli animali da parte di alcuni ricercatori.

L'indebolimento della visione antropocentrica che ha caratterizzato la cultura occidentale sino ad oggi ha favorito la diffusione di una maggiore conoscenza relativa alla sofferenza ed alla coscienza animale. Essa determina un maggiore interesse verso il mondo animale ed una più netta consapevolezza delle nostre responsabilità nei suoi confronti che hanno portato ad una profonda evoluzione nella sensibilità collettiva tesa ad allargare l'area di solidarietà fra esseri umani ed esseri di altre specie.

È indubbio che l'uso degli animali nella ricerca ha consentito di acquisire una parte notevole delle attuali conoscenze in campo biomedico e di ottenere risultati altrimenti irraggiungibili, tanto che attualmente la ricerca biomedica non è in grado di rinunciare alla sperimentazione animale, anche se negli ultimi anni il numero degli animali utilizzati è diminuito grazie all'introduzione di nuove tecniche di valutazione dei risultati, all'applicazione di modelli matematici e statistici, allo sviluppo ed all'impiego di alternative, quali i modelli "in vitro" che, comunque, non riproducono le stesse condizioni e situazioni che si riscontrano "in vivo".

In generale si può dire che la scienza empirica moderna è una scienza sperimentale e di conseguenza la sperimentazione è un'attività caratteristica e necessaria allo scienziato moderno che, se è vero che ha il compito di attuare esperimenti, non è detto che non possa o non debba essere sottoposto a vincoli e limiti che prendano in considerazione, fra l'altro, i problemi etici relativi alla sperimentazione animale.

### La legislazione vigente

L'utilizzazione degli animali a fini sperimentali era regolamentata dalla Legge n. 924 del 12/6/1931, modificata in seguito dalla Legge n. 615 del 1/5/1941 (GURI n. 163 del 12/7/41), definita anche Legge sulla "vivisezione", termine con il quale, in base alla Circolare n. 15 del 18/2/1974, si deve intendere un esperimento che comporta la sezione del corpo vivo. Il provvedimento, infatti, estende tutte le norme restrittive sulla vivisezione a qualunque esperimento sugli animali, compresi quelli richiesti dalla Farmacopea ufficiale per il controllo dell'innocuità e dell'efficacia dei farmaci già registrati.

La Legge n. 615/41 è stata sostituita dal Decreto Legislativo n. 116 del 27/1/92 (GURI n. 40 del 18/2/92), attuazione della Direttiva n. 86/609/CEE in materia di protezione degli animali utilizzati a fini sperimentali o ad altri fini scientifici.

### Decreto legislativo 116/92

Tale provvedimento ha apportato interessanti e sostanziali modifiche al concetto stesso di sperimentazione animale. Uno dei concetti più interessanti è la definizione di esperimento, riportata nell'art. n. 2: "1. Ai sensi del presente decreto si intende per: ... d) "esperimento": l'impiego di un animale a fini sperimentali o ad altri fini scientifici che può causare dolore, sofferenza, angoscia o danni temporanei durevoli, compresa qualsiasi azione che intenda o possa determinare la nascita di un animale in queste condizioni, ma esclusi i metodi meno dolorosi di uccisione o marcatura di un animale comunemente accettati come umanitari; un esperimento comincia quando un animale è preparato per la prima volta ai fini dell'esperimento e termina quando non occorrono ulteriori osservazioni per l'esperimento in corso; l'eliminazione del dolore, della sofferenza, dell'angoscia o dei danni durevoli, grazie alla corretta applicazione di un anestetico, di un analgesico o di altri metodi, non pone l'utilizzazione di un animale al di fuori dell'ambito di questa definizione. Sono escluse le pratiche agricole o cliniche veterinarie non sperimentali".

Nell'art. n. 3, comma 1, si specifica che l'utilizzo di animali viene consentito solo per:

"a) lo sviluppo, la produzione e le prove di qualità, di efficacia e di innocuità dei preparati farmaceutici, degli alimenti e di quelle altre sostanze o prodotti che servono: 1) per

la profilassi, la diagnosi o la cura di malattie, di cattivi stati di salute o di altre anomalie o dei loro effetti sull'uomo, sugli animali o sulle piante; 2) per la valutazione, la rilevazione, il controllo o le modificazioni delle condizioni fisiologiche nell'uomo, negli animali o nelle piante;

b) la protezione dell'ambiente naturale nell'interesse della salute e del benessere dell'uomo e degli animali".

Il comma 2, prevede che "Gli esperimenti possono essere eseguiti soltanto su animali da allevamento appartenenti alle specie indicate nell'allegato I, **esclusi cani, gatti e primati non umani**, e può aver luogo soltanto negli stabilimenti utilizzatori autorizzati".

L'art. n. 4 stabilisce invece i criteri generali di attuazione degli esperimenti: "... tra più esperimenti debbono preferirsi: 1) quelli che richiedono il minor numero di animali; 2) quelli che implicano l'impiego di animali con il più basso sviluppo neurologico; 3) quelli che causano meno dolore, sofferenza, angoscia o danni durevoli; 4) quelli che offrono maggiori probabilità di risultati soddisfacenti".

Il comma 3 specifica che "Tutti gli esperimenti devono essere effettuati sotto anestesia generale o locale" e il comma 5 che "Gli esperimenti devono essere eseguiti, direttamente o sotto la loro diretta responsabilità, da laureati in medicina e chirurgia, medicina veterinaria, biologia, scienze naturali o da persone munite di altro titolo riconosciuto idoneo ed equivalente ...".

Il comma 4 stabilisce inoltre che "Un animale non può essere utilizzato più di una volta in esperimenti che comportino forti dolori, angoscia o sofferenze equivalenti".

TOPO	Mus musculus
RATTO	Rattus norvegicus
PORCELLINO D'INDIA	Cavia porcellus
MESOCRICETO DORATO	Mesocricetus auratus
CONIGLIO	Oryctolagus cuniculus
PRIMATI NON UMANI	-
CANE	Canis familiaris
GATTO	Felis catus
QUAGLIA	Coturnix coturnix

tabella 1. Elenco degli animali da esperimento.

Nella Tabella 1 sono riportate le specie degli animali da esperimento indicate nell'allegato I.

Da considerare che, sempre ai sensi dell'art. n. 4, comma 8, le violazioni al comma 3 di tale articolo vengono punite, oltre che con sanzioni amministrative (peraltro estremamente severe: si va da un minimo di 10 ad un massimo di 100 milioni, aumentabili di 1/3 in caso di recidive), anche con sanzioni penali, ai sensi dell'art. n. 727 del Codice Penale.

L'art. n. 6 prevede che "Gli esperimenti devono essere effettuati in modo da evitare angoscia e sofferenza o dolore inutile agli animali ....

2. Sempreché sia compatibile con le finalità dell'esperimento, l'animale che, una volta passato l'effetto dell'anestesia, soffra molto deve essere trattato in tempo con degli analgesici o, se questo non è possibile, deve essere immediatamente ucciso con metodi umanitari ....

4. Un medico veterinario controlla la buona esecuzione delle procedure di esperimento, al termine decide se l'animale debba essere tenuto in vita o soppresso; procede comunque alla sua soppressione quando nell'animale permangano condizioni di sofferenza o angoscia oppure quando sia impossibile mantenere l'animale nelle condizioni di benessere di cui all'art. 5.

5. È vietato eseguire sugli animali interventi che li rendano afoni ed è altresì vietato il commercio l'acquisto e l'uso per esperimento di animali resi afoni".

Nel Capo II sono previste delle deroghe a tali disposizioni. L'art. n. 8 specifica che il Ministero della sanità, dietro richiesta motivata, può autorizzare degli "... esperimenti sui primati non umani, sui cani e sui gatti soltanto quando obiettivo siano verifiche medico-biologiche essenziali e gli esperimenti su altri animali non rispondano agli scopi dell'esperimento". L'art. n. 9 stabilisce invece che "... un esperimento può essere effettuato senza anestesia, soltanto su autorizzazione del Ministero della sanità se l'anestesia è più traumatica per l'animale dell'esperimento stesso oppure eccezionalmente incompatibile con il fine dell'esperimento".

Un'altra interessante innovazione introdotta dal D. L.vo n. 116/92 è rappresentata dalla precisa elencazione delle condizioni di stabulazione degli animali da esperimento, indicate in linea generale nell'art. n. 5:

"a) gli animali siano tenuti in un ambiente che consente una certa libertà di movimento e fruiscono di alimentazione, acqua e cure adeguate alla loro salute e al loro benessere;

b) sia ridotta al minimo qualsiasi limitazione alla possibilità di soddisfare ai bisogni fisiologici e comportamentali dell'animale;

c) siano effettuati controlli quotidiani per verificare le condizioni fisiche in cui gli animali sono allevati, tenuti o utilizzati;

d) un medico veterinario controlli il benessere e le condizioni di salute degli animali allo scopo di evitare danni durevoli, dolore, inutili sofferenze o angoscia ...".

Nell'Allegato II, Linee di indirizzo per la sistemazione e tutela degli animali, vengono stabilite con precisione le condizioni di stabulazione degli animali da esperimento, sia per quanto riguarda i locali di stabulazione (dei quali vengono indicate le caratteristiche strutturali), sia per quanto riguarda i parametri ambientali.

È vietata la coabitazione di specie fra loro incompatibili. Vengono previsti locali appositi, e separati, per animali malati o feriti. I box chiusi dovrebbero inoltre consentire la soddisfazione di alcuni bisogni etologici della specie ospitata (arrampicarsi, isolarsi, ecc.). Per quanto riguarda invece la superficie minima della gabbia essa dipende dalle dimensioni dell'animale (Tabella 2).

Specie	Superficie minima pavimento cm <sup>2</sup>	Altezza minima cm
TOPO	180	12
RATTO	350	14
CONIGLIO (2 kg)	2.000	30
GATTO (1-3 kg)	3.000	50
CANE (secondo l'altezza)	7.500/17.500	60/140
PRIMATI (secondo il peso)	2.500/15.000	60/125

#### Superficie minima per diverse specie

La stabulazione in gabbia è prevista soltanto per i piccoli roditori, i conigli e gli uccelli. Per le altre specie animali, la normativa prevede che non debbano assolutamente essere tenuti in gabbia, tranne in casi di assoluta necessità, ed anche così solo per il tempo strettamente necessario. Gli animali da fattoria vanno tenuti in recinti chiusi o in box di stalla, le caratteristiche dei quali sono stabilite nell'Allegato II.

Nella Tabella n. 3 sono riportate le dimensioni minime per le gabbie per quanto riguarda i suini, sia soggetti adulti che suinetti, unica specie fra gli animali da fattoria per la quale è prevista la permanenza in gabbia, in attesa e durante gli esperimenti, anche se soltanto in caso di assoluta necessità allo scopo dell'esperimento ed anche in tal caso soltanto per un periodo minimo.

Peso suino kg	Superficie minima pavimento cm <sup>2</sup>	Altezza minima cm
5-15	0.35	50
15-25	0.55	60
25-40	0.80	80

Tabella 3. Dimensione delle gabbie

Data la varietà delle misure e delle caratteristiche delle specie che possono venir impiegate nella sperimentazione, riveste notevole importanza la necessità di far concordare la struttura, le attrezzature interne e le dimensioni dei recinti ai bisogni specifici degli animali. Nelle Tabelle 4 e 5 sono riportati gli orientamenti per la permanenza di animali da fattoria in recinti chiusi o in box di stalla, che comunque dovrebbero consentire agli animali di distendersi comodamente, in attesa e durante gli esperimenti presso gli stabilimenti utilizzatori.

Specie	Peso Kg	Superficie minima pavimento recinto: m <sup>2</sup>	Lunghezza minima recinto m	Altezza minima separazione fra recinti m	Superficie minima recinto per gruppi m <sup>2</sup> /animale	Lunghezza minima mangiatoia per capo: m
Suini	10-30	2	1.6	0.8	0.2	0.20
	30-50	2	1.8	1.0	0.3	0.25
	50-100	3	2.1	1.2	0.8	0.30
	100-150	5	2.5	1.4	1.2	0.35
	> 150	5	2.5	1.4	2.5	0.40
Ovini	< 70	1.4	1.8	1.2	0.7	0.35
Caprini	< 70	1.6	1.8	2	0.8	0.35
Bovini	< 60	2	1.1	1	0.8	0.30
	60-100	2.2	1.8	1	1	0.30
	100-150	2.4	1.8	1	1.2	0.35
	150-200	2.5	2	1.2	1.4	0.40
	200-400	2.6	2.2	1.4	1.6	0.55
	> 400	2.8	2.2	1.4	1.8	0.65
Equini adulti		13.5	4.5	1.8	-	-

Tabella 4. Orientamenti per la permanenza di animali da fattoria in recinti chiusi

Specie	Peso Kg	Superficie minima del box di stalla: m <sup>2</sup>	Lunghezza minima del box di stalla: m	Altezza minima separazione fra box di stalla: m
Suini	100-150	1.2	2.0	0.9
	> 150	2.5	2.5	1.4
Ovini	< 70	0.7	1.0	0.9
Caprini	< 70	0.8	1.0	0.9
Bovini	60-100	0.6	1.0	0.9
	100-150	0.9	1.4	0.9
	150-200	1.2	1.6	1,4
	200-350	1.8	1.8	1.4
	350-500	2.1	1.9	1.4
	> 500	2.6	2.2	1.4
Equini adulti		4.0	2.5	1.6

Tabella 5. Orientamenti per la permanenza di animali da fattoria in box di stalla

Le disposizioni che riguardano i parametri ambientali sono stabilite dall'Allegato II.

Per quanto concerne la ventilazione, i locali di stabulazione dovrebbero essere muniti di un sistema adeguato alle esigenze delle specie ospitate. Anche se l'aria nei locali va frequentemente rinnovata, l'impianto di ventilazione va progettato in modo da non creare correnti d'aria nocive. Nei locali di permanenza degli animali dovrebbe essere vietato fumare.

Le temperature raccomandate (Tabella n. 6) riguardano soltanto animali adulti e normali; i neonati e i piccoli richiedono temperature più elevate.

SPECIE	TEMPERATURA
PRIMATI DEL NUOVO MONDO, NON UMANI	20-28 C°
TOPO	20-24 C°
RATTO	
CRICETO SIRIANO	
PORCELLINO D'INDIA	
PRIMATI DEL VECCHIO MONDO, NON UMANI	
QUAGLIA	
CONIGLIO	15-21 C°
GATTO	
CANE	
FURETTO	
POLLI	
PICCIONE	
MAIALE	10-24 C°
CAPRA	
OVINO	
BOVINO	
CAVALLO	

In alcuni casi particolari, ad esempio animali molto giovani o glabri, possono essere necessarie temperature più elevate. Inoltre, nel regolare la temperatura si deve tenere conto delle eventuali alterazioni della termoregolazione degli animali dovute a particolari condizioni fisiologiche o all'esecuzione stessa degli esperimenti. Ove necessario si richiede un impianto di condizionamento dell'aria, in modo da mantenere la temperatura ambientale entro parametri che garantiscano un adeguato benessere agli animali. Il grado di umidità relativa nei locali di stabulazione deve essere adeguato alle specie ospitate, ed in genere deve essere mantenuto a 55% ± 10%; devono comunque essere evitati, per periodi prolungati, valori inferiori al 40% o superiori al 70%.

Per quanto riguarda l'illuminazione, ove manchi quella naturale si deve garantire un'adeguata illuminazione artificiale ed il ciclo luce/buio; si dovrà tener conto della particolare sensibilità degli animali albini alla luce.

Il rumore può costituire un importante fattore di disturbo. I locali di stabulazione, quindi, dovrebbero essere isolati contro qualsiasi fonte di intenso rumore, sia nella gamma dei suoni udibili che in quella dei suoni a più alta frequenza.

Nell'Allegato II viene considerata la densità di popolamento delle diverse specie, e per ognuna viene indicato il valore ottimale rispetto alle dimensioni della gabbia, sempre al fine di garantire un livello adeguato di benessere agli animali stabulati.

Per quanto riguarda la tutela vengono prese in considerazione, oltre naturalmente alla salute degli animali stessi, le condizioni della loro cattura, dell'imballo e del trasporto, nonché quelle della quarantena, dell'isolamento e dell'acclimatazione.

Per quanto riguarda invece l'alimentazione e l'abbeverata, nell'Allegato II vengono indicate le linee guida secondo le quali comportarsi. I mangimi per gli animali dovrebbero essere imballati in sacchi chiusi e impermeabili, recanti, se possibile, la data di preparazione. La conservazione dei mangimi destinati agli animali deve essere effettuata seguendo regole che ne garantiscano l'igienicità e la buona conservazione per tutto il periodo di magazzinaggio.

Tutti gli animali devono poter disporre di acqua fresca e potabile. I metodi utilizzati per l'abbeverata sono prevalentemente due: le bottiglie biberon e gli apparecchi per l'abbeveraggio automatico. Le bottiglie biberon vengono utilizzate per i piccoli animali, come roditori e conigli, gli abbeveratoi per tutti gli altri.

Nella Circolare applicativa, pubblicata sulla GURI n. 163 del 14/7/1994, che faceva seguito ad altre Circolari applicative, dapprima la n. 32 del 26/8/92, e successivamente la n. 17 e la n. 18 del 5/5/93, vengono precisati alcuni punti che il D.L.vo n. 116/92 non chiariva a sufficienza.

In particolare viene specificato che gli animali utilizzati per gli esperimenti non possono essere animali randagi (ex Legge n. 281/91), non possono essere prelevati *motu proprio* da stabilimenti di allevamento o da fornitori che non siano quelli specificamente autorizzati a fornire animali da esperimento, e che, infine, non possono essere

utilizzati animali selvatici, tranne casi particolari, per i quali il prelievo deve avvenire comunque previa comunicazione al comune competente per territorio e dietro preventiva autorizzazione. La Legge n. 157 del 11/2/92 riserva inoltre il prelievo di alcune categorie di animali selvatici, previa autorizzazione della regione competente, soltanto agli istituti scientifici universitari, al CNR ed ai musei di storia naturale a fini di studio e ricerca.

Per quanto riguarda le deroghe (sperimentazioni su animali non in stato di anestesia, sperimentazioni su gatti, cani, primati non umani, sperimentazioni su animali in via di estinzione, sperimentazioni a scopo didattico) vengono concesse le autorizzazioni soltanto a precise condizioni:

Esperimento senza preventiva anestesia - Ammissibile soltanto quando quest'ultima risulti essere più traumatica per l'animale dell'esperimento stesso o quando l'anestesia è incompatibile con i fini dell'esperimento stesso. Qualora l'esperimento comporti o rischi di comportare gravi lesioni o forti dolori, l'autorizzazione viene concessa soltanto in caso di eccezionale importanza dell'esperimento stesso.

Esperimenti su primati non umani, cani e gatti - Le autorizzazioni vengono concesse soltanto per verifiche medico-biologiche tali da non consentire il ricorso ad altre specie.

Esperimenti su animali in via di estinzione - Vale lo stesso discorso dell'impossibilità a ricorrere ad altre specie.

Esperimenti a scopo didattico - Vengono ammessi soltanto in caso di inderogabile necessità e quando risulti impossibile ricorrere ad altri sistemi dimostrativi.

In relazione al tipo di struttura, al numero ed alle specie animali stabulate ed alla natura delle ricerche, ogni stabilimento deve avvalersi di personale qualificato ed in numero sufficiente.

Deve inoltre essere identificato uno o più responsabili del settore e tale responsabile deve, naturalmente, essere una persona qualificata e competente e possedere una conoscenza adeguata delle specie animali stabulate nell'impianto e delle necessità derivanti dalle ricerche espletate.

Il controllo delle condizioni di salute degli animali e l'assistenza sanitaria devono essere assicurati da un medico veterinario che svolge, inoltre, funzioni di consulenza sul benessere degli animali nelle diverse fasi, compresa quella d'impiego.

## Conclusioni

Una delle critiche più frequentemente avanzate all'impiego dei modelli animali riguarda la validità dei risultati ottenuti e la loro applicabilità all'uomo; tuttavia, se è possibile estrapolare i risultati ottenuti da esperimenti riguardanti sistemi semplici, come, ad esempio, microrganismi, cellule, tessuti, ed applicarli all'uomo, a maggior ragione dovrebbe essere possibile utilizzare i dati ottenuti da prove effettuate su organismi superiori. Questo in quanto tutti gli esseri viventi presentano analoghi meccanismi biologici che, fra gli animali superiori, ed ancora più marcatamente fra i mammiferi, presentano spiccate analogie. Queste analogie fra le diverse specie consentono, nella maggior parte dei casi, l'impiego dello stesso farmaco sia sull'animale che sull'uomo; d'altra parte la medicina veterinaria opera continuamente trasferendo le proprie conoscenze fra una specie e l'altra. Non dimentichiamo, infine, che anche nell'ambito della stessa specie *Homo Sapiens*, nelle diverse razze ed addirittura in singoli individui, esistono variazioni nel metabolismo delle stesse sostanze, alimentari o farmacologiche.

La sperimentazione animale indirizzata a scoperte o verifiche che hanno conseguenze dirette sulla salute umana è quella che ha suscitato, e suscita, le più vivaci proteste, e che continua a stimolare discussioni sulla legittimità morale dell'uso degli animali; non va però dimenticato che altri settori della ricerca coinvolgono animali e sono finalizzati al miglioramento della salute e del benessere degli animali stessi. Tutti i farmaci impiegati nella terapia e nella prevenzione delle malattie degli animali devono, infatti, essere anch'essi saggiati sugli stessi prima dell'impiego su vasta scala; ricordiamo in questa sede, a titolo puramente esemplificativo, il controllo di gravi malattie infettive, anche a carattere zoonosico come la rabbia, ottenuto attraverso l'impiego dei vaccini. Oggi, grazie al progresso della ricerca, molte patologie sono note e sotto controllo, mentre altre presentano ancora aspetti oscuri; per colmare queste lacune la comunità scientifica non può che prendere atto della necessità della sperimentazione animale, chiedendo però garanzie sul massimo rispetto degli animali utilizzati. Infatti un principio etico fondamentale nella sperimentazione animale è che gli animali da esperimento non devono essere sottoposti a maltrattamenti e sofferenze evitabili, oltre, naturalmente, a circoscrivere la sperimentazione animale soltanto a quei casi in cui sia realmente indispensabile.

Parole chiave: Benessere, sperimentazione animale, D. L.vo n. 116/92

Key words: Welfare, animal experimentation, D. L.vo n. 116/92

RIASSUNTO: Gli autori illustrano il Decreto legislativo n. 116/92 sulla sperimentazione con particolare riferimento ai parametri ambientali, data la necessità di far concordare la struttura, le attrezzature interne e le dimensioni degli stabulari ai bisogni specifici degli animali in modo da garantire loro il benessere mentre sono in attesa e durante gli esperimenti.

SUMMARY: The authors take into account the Italian Rule D.L. 116/92 regarding animal experimentation. They strongly advise The necessity of the contemporaneous well fitting of the building, the cages, the pens, and the microclimatic conditions to the behavioural requirements of the animals. Of course the welfare must be guarantee during both the experiment or the rearing period.

## BIBLIOGRAFIA

1. Baumans V. (1992). International guidelines and policies that impact on pain and distress of laboratory animals. Atti Simp. "Valutazione e Controllo del Dolore e del Distress negli Animali da Laboratorio", Roma, 1: 62-67
2. Brai P.F.(1992). Behavioural and clinical assessment of pain and distress: species differences. Atti Simp. "Valutazione e Controllo del Dolore e del Distress negli Animali da Laboratorio", Roma, 1: 1-8
3. Cinotti S., Peccolo G.(1997). Protezione animale. UTET
4. CNR - Commissione di bioetica (1992). Documento sulla sperimentazione animale. Roma
5. Guaitani A. (1992). Requirements to control pain and distress in animal research according to the Italian law by degree. Atti Simp. "Valutazione e Controllo del Dolore e del Distress negli Animali da Laboratorio", Roma, 1: 52-61
6. Jackson R.K.(1992). Environmental enrichment for the well-being of laboratory animals. Atti Simp. "Valutazione e Controllo del Dolore e del Distress negli Animali da Laboratorio", Roma, 1: 47-51
7. Monti F. (1993). La sperimentazione animale e la Medicina Veterinaria. Il Progr. Vet., 48: 225-226
8. Odendaal J.S.J. (1995). Etologia veterinaria e benessere animale. Il Vet. d'Italia, 7: 165-174
9. Panichi M., Ternavasio M., Tarditi L. (1995). Norme minime per la protezione dei suini. Considerazioni sul D.L.vo n. 534/92. Il ruolo delle associazioni protezionistiche. Il Progr. Vet., 50: 303-307
10. Pezza F. (1988). Diritto e legislazione veterinaria. Monduzzi Ed., Collana SBM, Noceto, PR
11. Pezza F. (1993). Il D.L.vo 27/1/92 n. 116 in materia di protezione degli animali utilizzati a fini sperimentali o ad altri fini scientifici. Il Progr. Vet., 48:422-424
12. Verga M. (1993). L'etologia applicata, oggi. ODV, 14(7/8): 23-26

# RISULTATI DI UNA INDAGINE CONOSCITIVA SUI DORMITORI URBANI DI STORNO, *STURNUS VULGARIS* L., ED ASPETTI ANTROPOZOONOSICI

G. Russo<sup>1</sup>, P.G. Bracchi<sup>2</sup>, G. Delbono<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Medico Veterinario L.I.P.U.

<sup>2</sup>Istituto di Scienza e Tecnologia degli Alimenti - Facoltà di Medicina Veterinaria - Università degli Studi di Parma

## Introduzione

Lo storno (*Sturnus vulgaris* L.), specie di origine eurasiatica, è stato introdotto dall'uomo in tutto il mondo ad eccezione del Sud America e delle terre polari (1,2). Presenta un sistema alimentare particolarmente efficiente che gli consente di utilizzare numerose fonti trofiche e di individuare attivamente il cibo sottoterra ("prying") modificando volontariamente la visione da laterale a frontale, grazie alla particolare conformazione muscolo-scheletrica del cranio (3,4). Anche la nidificazione, che avviene in cavità protette, determina un alto rimescolamento genico e permette di ottenere un alto numero di individui per stagione riproduttiva (5). Infine un comportamento sociale complesso, che comprende sperimentazione di nuovi comportamenti, imitazione, capacità di ricordare ed associare stimoli e segnali ed una spiccata socialità, hanno fatto raggiungere alla specie il numero di circa 600 milioni di individui (2,4). Queste caratteristiche hanno contribuito al successo evolutivo della specie.

La recente meridionalizzazione dell'areale di distribuzione dello storno in Europa (6,7,8) ha provocato un aumento della presenza numerica della specie anche in Italia (9,10), con incremento delle nidificazioni e del fenomeno dei dormitori urbani ("roosting"). La comprensione dei vari aspetti collegati all'accresciuta presenza dello storno nelle città e nelle campagne italiane, insieme alla conoscenza delle problematiche ambientali e sanitarie relative, possono fornire le indicazioni per le strategie di controllo e costituire strumento di conoscenza e rispetto di questa specie sinantropica.

## Materiali e metodi

A partire dall'inverno del 1994 sono stati presi contatti con alcuni enti ed associazioni di capoluoghi di provincia, che si occupano dello studio degli uccelli, chiedendo la disponibilità di un responsabile che si occupasse della osservazione della presenza di *Sturnus vulgaris* nel territorio. La rilevazione è stata effettuata mediante l'ausilio di questionari, tramite colloqui telefonici con i rilevatori e tramite censimenti condotti personalmente. La maggior parte dei dati sono stati raccolti in collaborazione con L.I.P.U.-Italia, ma anche con musei ed osservatori faunistici. E' stato possibile ottenere informazioni da 27 capoluoghi di provincia dell'Italia continentale. Sono stati rilevati dati concernenti tre aspetti della biologia dello storno: nidificazione, assunzione di prodotti agricoli e dormitori. Questa prima indagine ha riguardato le annate 1994 e 1995. A gennaio 1996 è iniziata una seconda indagine per opera della L.I.P.U., che ha inviato questionari ai responsabili delle problematiche ambientali di 20 capoluoghi di provincia. Per l'anno 1996 sono stati raccolti i dati relativi ad un aspetto della biologia dello storno, quello dei dormitori, secondo le stesse modalità di rilevamento adottate nella prima ricerca.

## Risultati

### Nidificazione

Per valutare i dati con un maggiore margine di sicurezza, sono state censite solamente le nidificazioni certe (storno in prossimità del nido) e non quelle eventuali e probabili (storni in parata o presenti in periodo di nidificazione). Particolarmente interessanti risultano le nidificazioni nella città di Bari e nei territori delle province di Matera e Brindisi, primi rilievi in assoluto di nidificazione dello storno in queste zone. Nella Figura 1 sono riportate le percentuali di nidificazione, pressoché uguali, in territorio urbano ed extraurbano su un totale di 160 rilevamenti effettuati nelle annate 1994 e 1995.

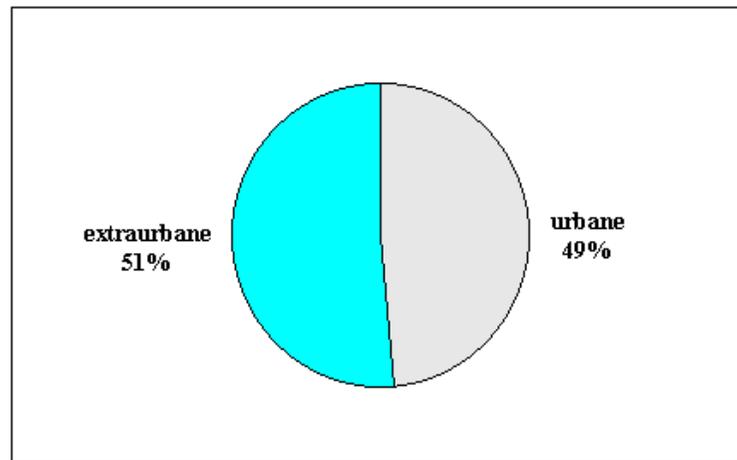


Figura 1: *Nidificazioni di Sturnus vulgaris nei territori urbani ed extra-urbani delle provincie italiane nella primavera-estate 1994-1995.*

Nella figura 2 invece si può osservare la netta prevalenza delle nidificazioni in manufatti rispetto a quelle nelle cavità degli alberi. Il manufatto preferito è risultato in assoluto il tetto (81%), seguono i fori nei muri (7%), i pali (4,3%), i nidi artificiali (3,4%) ed altre cavità (3,4%). Le cavità degli alberi erano naturali nell'88% dei casi, e causate da Piciformi nel 12%.

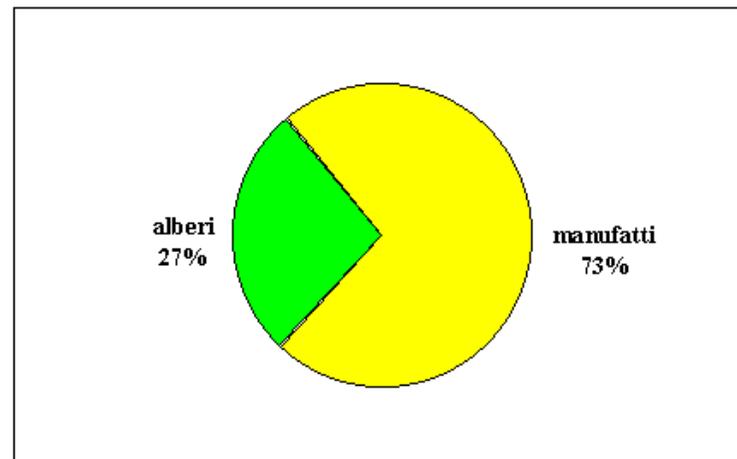


Figura 2: *Ubicazioni delle nidificazioni di Sturnus vulgaris nella primavera-estate 1994-1995.*

#### Prodotti agricoli utilizzati per l'alimentazione

I prodotti agricoli utilizzati come fonte alimentare dallo storno sono i più diversi e riflettono le colture tipiche di una determinata zona. Su 30 rilevamenti effettuati nel 1995 (Figura 3) le colture preferite sono l'uva, i cereali, le ciliegie e le olive, ma sono risultati interessati anche kaki, fichi, fragole e frutti di bosco. Sono stati segnalati danni produttivi in 22 casi.

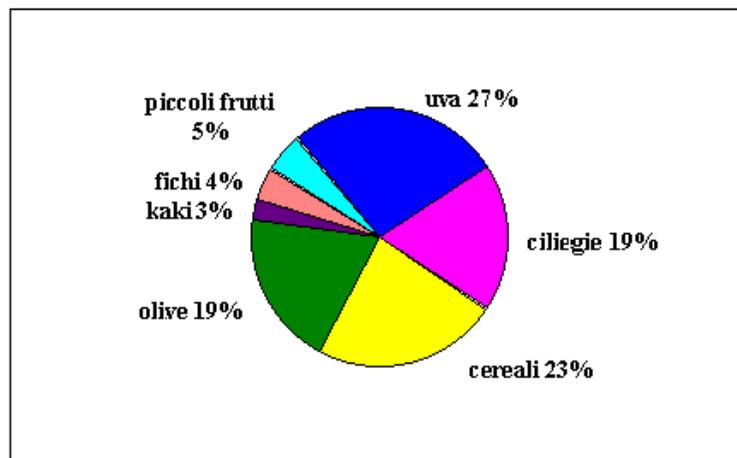


Figura 3: *Prodotti agricoli di cui si nutre lo storno nelle annate 1994-1995.*

## Dormitori

Per le annate 1994-1995 sono stati censiti 66 dormitori in 33 città italiane, di cui 26 capoluoghi di provincia e 7 grandi centri. Per l'anno 1996 sono stati censiti 47 dormitori in 28 città italiane, di cui 20 capoluoghi di provincia e 8 grandi centri. Si sono evidenziati i seguenti dati:

- **Città interessate.** La distribuzione dei dormitori cittadini riguarda soprattutto le provincie del Nord, ma non mancano al Centro ed al Sud. Con il censimento del 1996 sono state confermate l'80% delle città sede del fenomeno di roosting dei due anni precedenti. Inoltre un confronto tra le due indagini fa emergere un massiccio aumento di dormitori in Piemonte.
- **Ubicazione del roost.** Come evidenziato nella Figura 4 la maggior parte dei dormitori erano costituiti dagli alberi, in qualche caso da manufatti ed a volte da entrambi. I manufatti sede di dormitori erano tralicci dell'alta tensione, tetti, torri ed antenne TV. Soltanto il 60% dei dormitori è stato occupato per il terzo anno consecutivo.
- **Essenze arboree utilizzate.** Gli alberi più frequentemente utilizzati come dormitorio (Figura 5) erano platani, lecci, bagolari e tigli. Questi ultimi vengono solitamente utilizzati insieme ad alberi di altre specie. Risultano frequentate anche conifere (pini, cipressi, abeti, cedri), ippocastani, magnolie, pioppi ed altre specie, tra le quali segnaliamo un'erbaacea, la *Carex spp.*
- **Illuminazione.** Nel periodo agosto-marzo i dormitori sono risultati illuminati per il 53% dei casi, non illuminati per il 14% mentre nel 17% dei casi il dato non è stato rilevato.
- **Traffico.** Nel periodo agosto-marzo nei pressi dei dormitori il traffico è risultato assente nel 50% dei casi, presente nel 23% mentre nel 27% dei casi il dato non è stato rilevato.
- **Periodo di utilizzo dei dormitori.** I mesi in cui i dormitori hanno visto una maggiore occupazione da parte degli storni sono stati quelli autunnali e invernali (Figura 6). Da registrare che nel 1996 si è registrata una occupazione già dai mesi estivi.
- **Imbrattamento da feci.** Come si può osservare dalla Figura 7 in alcuni casi il disagio è stato giudicato essere di una certa importanza, mentre in altri casi è risultato irrilevante.
- **Rumore.** Il disturbo acustico provocato dagli uccelli durante la notte è stato in qualche caso giudicato grave, ma per gran parte dei dormitori il dato non è stato rilevato (Figura 8).
- **Mezzi di controllo.** Per molti dei dormitori non sono state adottate tecniche per il controllo della presenza degli storni (Figura 9). In alcuni casi, in percentuale crescente nell'anno 1996, si è ricorso a potature, grido d'angoscia ("distress-call"), fuochi, fari, laser, ultrasuoni, spari e sagome. A volte si sono adottate tecniche combinate. Quando applicati, i mezzi di controllo si sono mostrati efficaci nel 47% dei casi (abbandono del roost da parte degli storni) nelle annate 1994-1995, e nel 44% dei casi nel 1996.

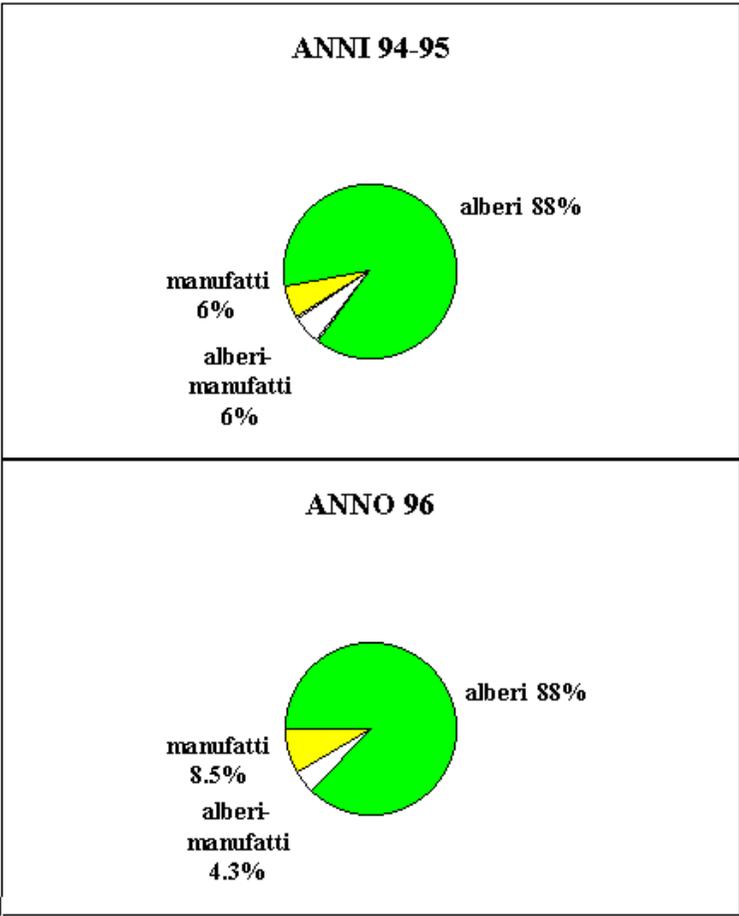


Figura 4: Ubicazione dei dormitori nei centri abitati nei due rilevamenti.

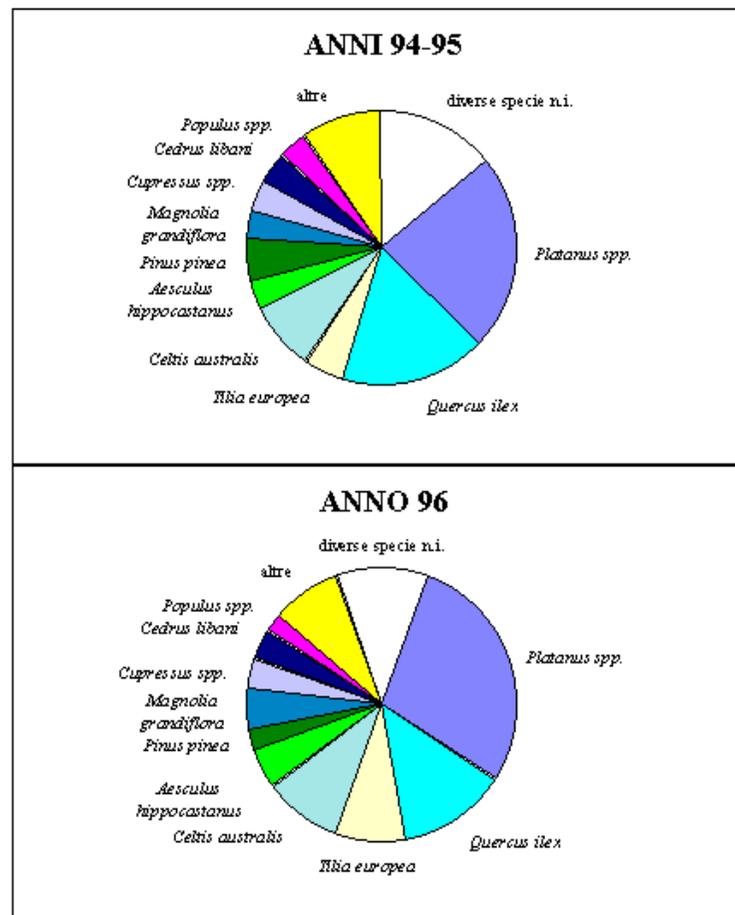


Figura 5: Specie arboree utilizzate per i dormitori nei centri abitati nei due rilevamenti.

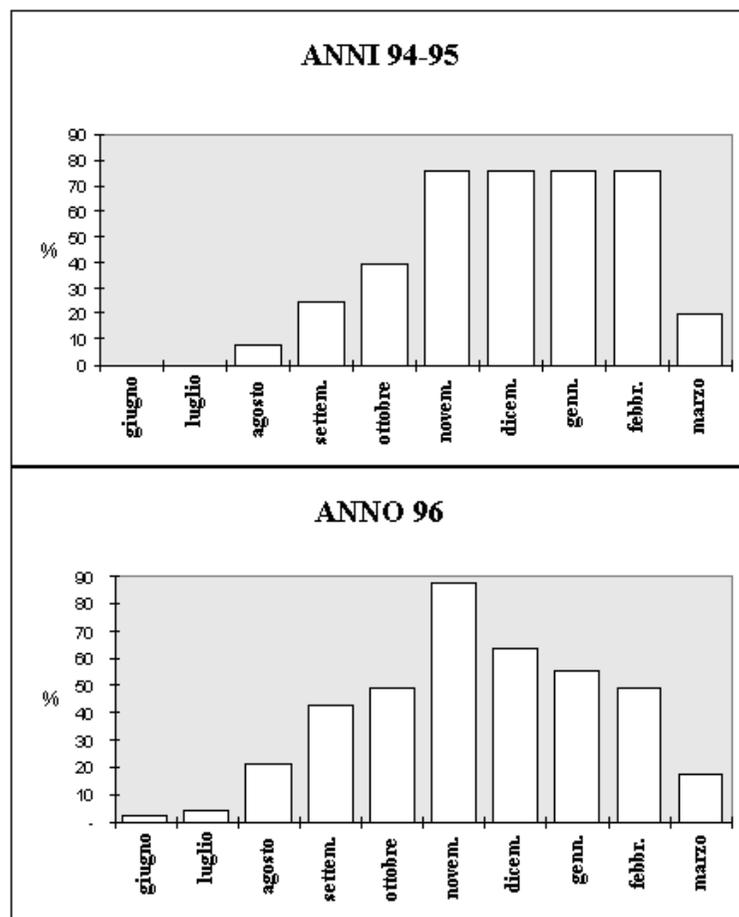


Figura 6: Percentuali di occupazione dei dormitori urbani nei diversi mesi nei due rilevamenti.

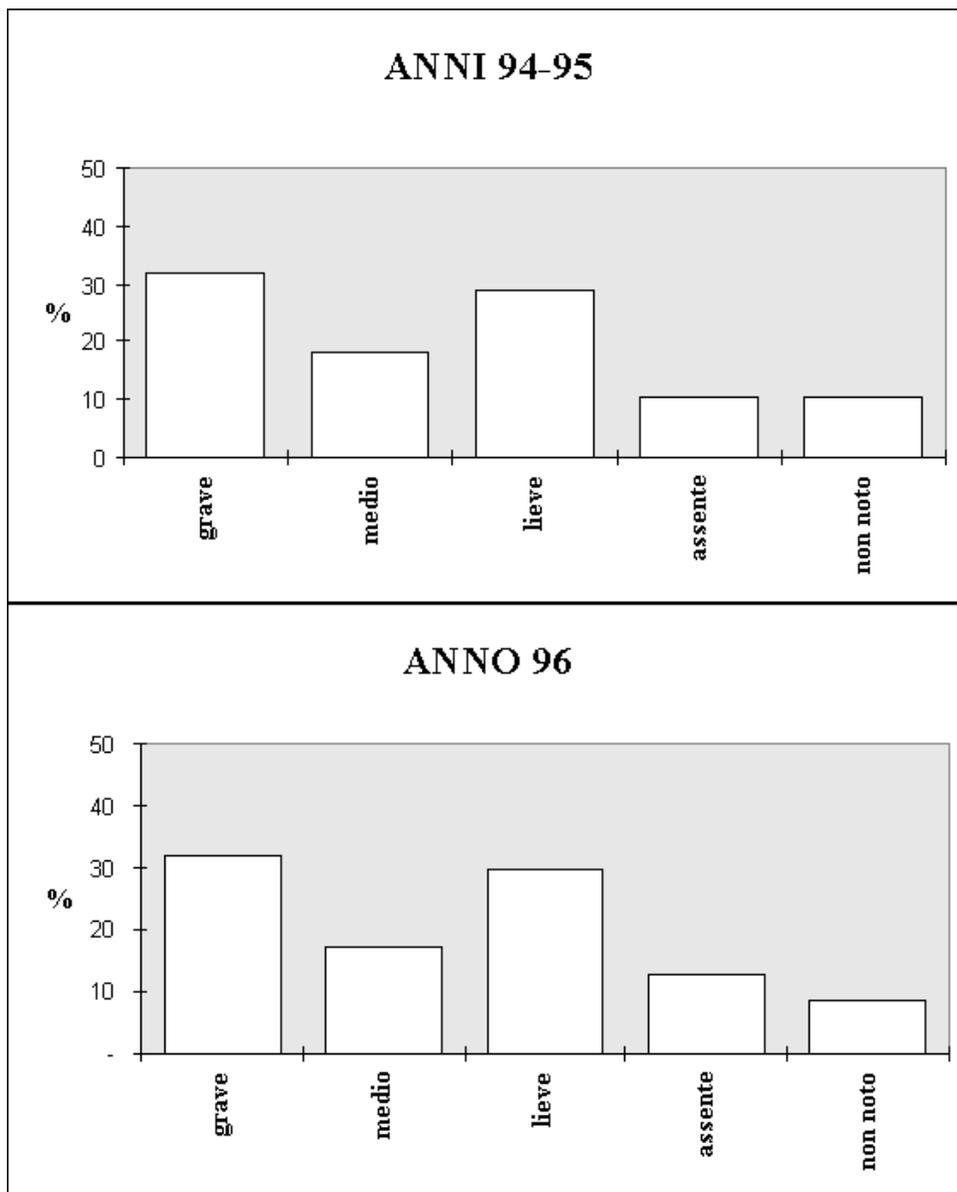


Figura 7: Percentuali di danni da imbrattamento con le feci dei dormitori urbani nei due rilevamenti.

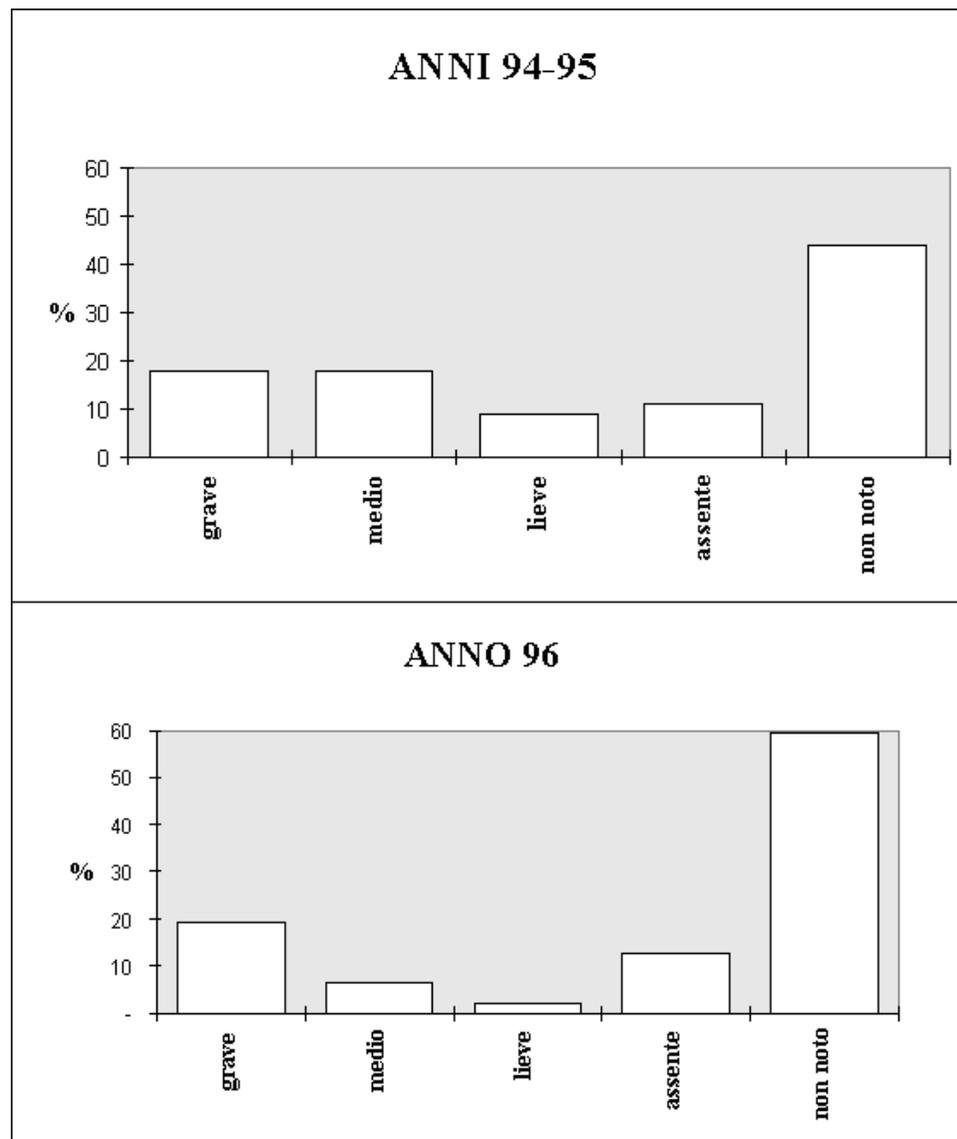


Figura 8: Percentuali di danni da rumore dei dormitori urbani nei due rilevamenti.

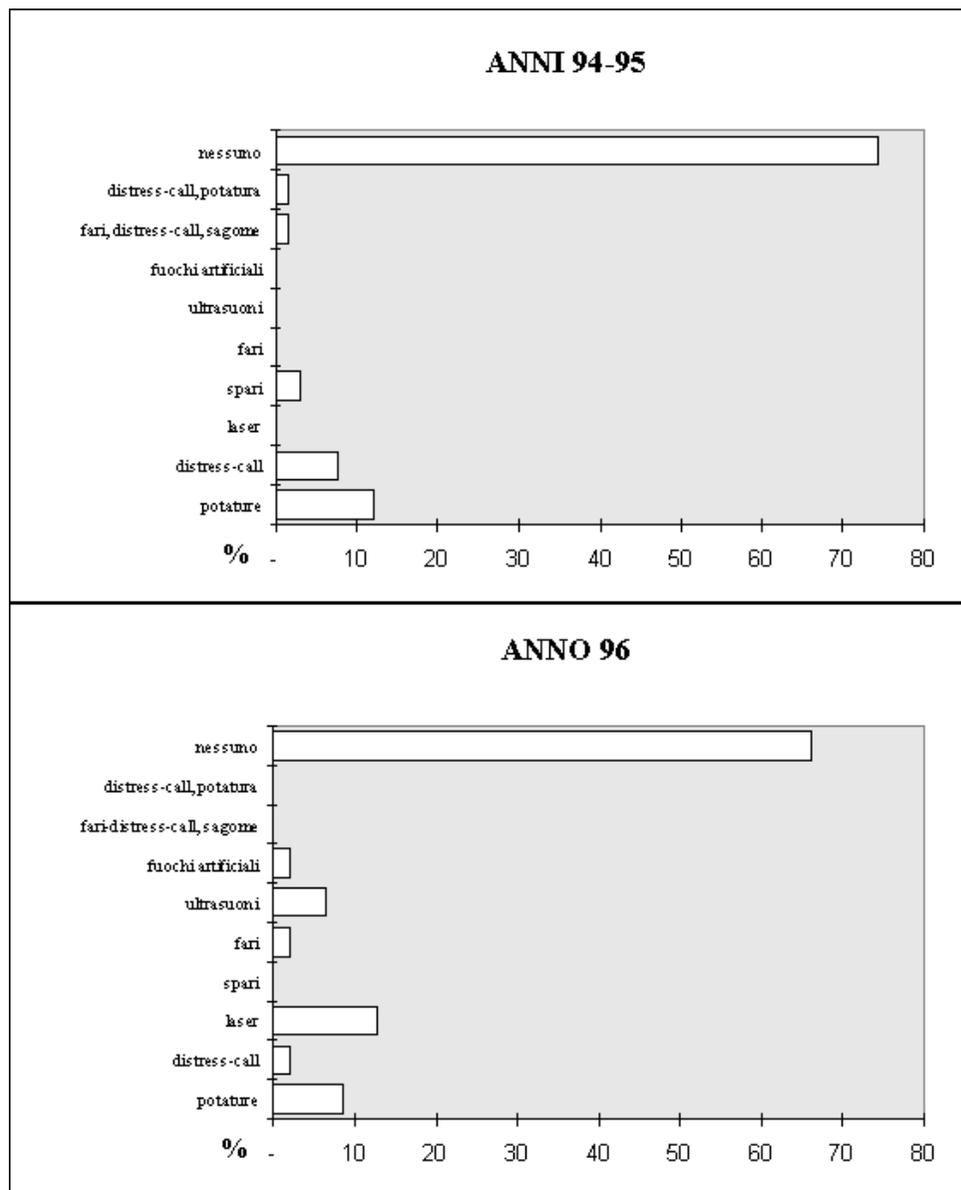


Figura 9: Percentuali di utilizzo di mezzi di controllo adottati nei dormitori urbani nei due rilevamenti.

## Discussione

L'analisi dei dati evidenzia diversi fenomeni interessanti. Per ciò che riguarda la nidificazione, considerando le province interessate per la prima volta da questo

fenomeno, viene confermata l'espansione verso Sud dell'areale di distribuzione dello storno, come già rilevato da diversi autori (9,10,11,12). La nidificazione appare inoltre consolidata nella rimanente parte del territorio dell'Italia del Nord e Centrale, secondo quanto segnalato dal PAI dell'I.N.F.S. (13). Le nidificazioni sono diffuse sia negli ambienti urbani-suburbani, che in quelli prettamente di campagna. Le nidificazioni in manufatti sono di gran lunga superiori rispetto a quelle nelle cavità degli alberi e questo evidenzia il ruolo fondamentale che ormai hanno le infrastrutture antropiche nel favorire la moltiplicazione dello storno, rispetto all'ambiente naturale. La varietà del sito di nidificazione dimostra ulteriormente l'adattabilità di *Sturnus vulgaris*.

I prodotti agricoli principalmente utilizzati dalla specie, sono gli stessi già individuati in bibliografia (14,15,16,17). Probabilmente le colture più interessate sono quelle che presentano una maggiore estensione e frequenza rispetto alla superficie coltivata: infatti non è così usuale osservare piantagioni estese di kaki, fichi o frutti di bosco. Tali colture, in sostanza, si salverebbero solo perché poco diffuse sul territorio. Le coltivazioni che manifestano meno danni in assoluto sono quelle cerealicole, probabilmente in relazione alla capacità dei cereali di accestire, cioè di produrre dalla piantina originata dal seme, un cespo di tante piantine, con il quale viene regolato il numero di piantine venute a mancare in seguito alla predazione dello storno.

La localizzazione dei dormitori non segue apparentemente criteri precisi: si possono notare con una certa frequenza roost situati in giardini o viali alberati protetti da palazzi, ma anche su alberi isolati. Nelle città ove sono stati effettuati i rilevamenti, i dormitori sono ubicati soprattutto su alberi anche se in piccola percentuale vengono utilizzate infrastrutture umane. Questo conferma la preferenza per le essenze vegetali, come dormitori per gli storni dell'Europa continentale, ma al contempo dimostra un adattamento della specie anche ai fabbricati o ad altri manufatti similmente a quanto accade già in altri paesi (18,19). Secondo un'ardita ipotesi questi uccelli utilizzerebbero le linee ferroviarie o i tratti autostradali come segnali visivi per l'orientamento sulle medie e brevi distanze per raggiungere il dormitorio notturno.

Gli alberi più utilizzati come sede di dormitorio sono stati soprattutto *Platanus spp.* e *Quercus ilex*, in virtù del fatto che il primo perde le foglie in autunno avanzato ed il secondo è un sempreverde; entrambi offrono quindi agli uccelli una buona copertura vegetale durante la stagione fredda. Sono state poi utilizzate anche altre specie di alberi, sia sempreverdi, che caducifoglie (*Tilia europaea*, *Celtis australis*, *Aesculus hippocastanus*, *Populus spp.* ecc.); queste ultime vengono abbandonate quando perdono le foglie e gli storni si spostano sui sempreverdi o presumibilmente abbandonano la città migrando più a Sud. Questi dati sulle diverse essenze arboree utilizzate, confermano quelli di Montemaggiori (20) e di Cignini (21), oltre a convalidare ulteriormente l'ipotesi della scelta di alberi con foglie, come sede di roost, per limitare la dispersione di calore. In generale, si può osservare una adattabilità elevata anche nella scelta delle specie vegetali sede di dormitorio.

Gli storni mostrano uno spiccato fototropismo nella scelta dei dormitori; la preferenza non è così marcata per la scelta dei luoghi con traffico veicolare.

I mesi in cui i dormitori sono più utilizzati sono quelli più freddi, ad ulteriore riprova della ricerca del calore urbano da parte di *Sturnus vulgaris*.

Gli inconvenienti (imbrattamento e rumore) provocati dai roost di storni sono in alcuni casi gravi, in altri irrilevanti. Un'interpretazione superficiale dei dati può portare a concludere che la maggior parte dei dormitori urbani di storni determinano in qualche modo problemi ai cittadini. L'individuazione dei dormitori è in realtà legata al numero di storni che li compongono. Ovvero, fino a quando i roost urbani di storni non hanno raggiunto dimensioni notevoli non creano danni e non sono quindi notati dalla maggior parte dei cittadini. Come esempio si può citare il caso della città di Verona; in cui i dormitori essendo ancora di modesta entità non procurano nessun danno e la loro presenza è nota soltanto alle persone che risiedono nelle vicinanze. Se il fenomeno dovesse proseguire anche nei prossimi anni, aumentando di intensità, verrebbe sicuramente divulgato per le caratteristiche negative che acquisirebbe.

Per i mezzi di controllo adottati per allontanare gli storni dai dormitori urbani è stata effettuata solo una semplice rilevazione dei tipi utilizzati; accanto a soluzioni drastiche come potature o uso di detonanti in centri abitati, si sperimentano sistemi innovativi come gli ultrasuoni. L'efficacia è risultata valida nella metà dei casi, senza però considerare che in alcuni dormitori si sono dovuti utilizzare più mezzi di controllo per tentare di allontanare gli uccelli. Diversi sistemi si sono rivelati inefficaci a causa della capacità di reazione o di adattamento manifestata dallo storno; questo risulta a tutt'oggi il problema più difficile da risolvere.

Dal punto di vista igienico-sanitario non è stato fornito da nessun Comune, U.L.S.S. o Istituto Zooprofilattico uno studio microbiologico condotto sugli escrementi di questi uccelli raccolti sotto i dormitori; lo storno tuttavia è da ritenere trasmettitore di alcune patologie (Istoplasmosi negli USA per l'uomo e TGE per i suini sono quelle provate, le altre sono da ritenersi a rischio teorico).

## Profilo legale

L'inquadramento giuridico dello storno, in Italia, risulta definito a tutt'oggi da tre norme:

- La Direttiva del Consiglio della CEE n. 409 del 2 aprile 1979: "Conservazione degli uccelli selvatici", conosciuta come 'Direttiva uccelli'.
- La Legge 11 Febbraio 1992 n. 157: "Norme per la protezione della fauna selvatica omeoterma e per il prelievo venatorio", conosciuta come "Legge sulla caccia".

- Il Decreto del Presidente del Consiglio dei Ministri del 21 Marzo 1997: 'Modificazione delle specie cacciabili della legge 11/2/1992 n. 157'.

La Direttiva CEE 79/409 presenta due allegati: nel primo sono elencate le specie protette, mentre nel secondo sono elencate le specie cacciabili in tutto o in parte, come *Sturnus vulgaris*. Lo storno risulta cacciabile solamente (art. 9) "ove la specie si renda responsabile di situazioni di danno effettivo e comprovato ai prodotti agricoli o di rischio sanitario per l'uomo". Unicamente in questi casi quindi la UE demanda ai singoli Stati membri e alle regioni il compito di controllare la specie. E' quindi dal 1979 che l'Italia, non sussistendo allora, e con assoluta certezza nemmeno oggi, le condizioni di danno e rischio, risulta essere differita alla Corte Europea dell'Aja per violazione della direttiva.

La legge 157 del 1992 include lo storno nell'elenco delle specie cacciabili dalla terza domenica di settembre al 31 gennaio e ne autorizza anche la cattura per cessione a fini di richiamo, stabilendone le modalità.

Il D.P.C.M. del 21/03/1997 modifica la L.157/92, recependo la Dir. CEE 79/409, ovvero proibendo la caccia sul territorio nazionale a quelle specie protette dalla L. 409/79 che invece figuravano come cacciabili nella L. 157/92. Più precisamente si tratta di passero, passera mattugia, passera oltremontana, colino della Virginia, corvo, taccola, brancolino di monte, pittima reale e, appunto, dello storno. Contro tale decreto hanno fatto ricorso le regioni Lombardia, Toscana ed Emilia Romagna adducendo come motivazione l'abbondanza numerica di *Sturnus vulgaris*.

Fino ad oggi comunque lo storno non è cacciabile e non risulta provata da nessuno studio nazionale la sua attitudine sicuramente dannosa, considerata la dieta obbligatoriamente insettivora durante tutto l'arco dell'anno; non sono state quindi intraprese azioni di controllo numerico nei suoi confronti. Anche se in Italia la situazione al riguardo può essere definita in diverse occasioni "scomoda", se si inquadra la specie a livello europeo non è sempre applicabile lo stesso parametro, date le notevoli diminuzioni numeriche di questa specie in tutto il Nord Europa. La causa dei disagi provocati in Italia dallo storno è dovuta quindi anche alla meridionalizzazione del suo areale di distribuzione, come ampiamente documentato in bibliografia.

Con la recente entrata in vigore degli "Emendamenti agli annessi II e III alla Convenzione relativa alla Conservazione della vita selvatica e dell'ambiente naturale in Europa n. 409/79", pubblicati sulla G.U. n. 212 del 11/09/97, la posizione dello storno risulta invariata rispetto al testo legislativo del 1979.

## Il caso di Parma

Dal 10 agosto 1997 la presenza degli storni sui platani di Piazzale Dalla Chiesa a Parma, è tornata a farsi massiccia (circa 50000 capi). Per tre anni circa, gli uccelli avevano preferito i platani delle aree verdi dell'Ospedale Maggiore e del Parco Ducale a quelli del piazzale della stazione. Lo spostamento verificatosi negli anni passati era dovuto al fatto che era stato utilizzato il distress-call specie-specifico dello storno, associato a potature mirate (taglio di tutti i rami orizzontali di diametro inferiore ad un centimetro) dei platani. Gli uccelli quindi si erano spostati sugli alberi del greto del torrente Parma, ma da qui furono costretti ad andarsene nell'autunno del 1994 quando il Magistrato del Po fece liberare il letto del torrente dalla vegetazione per scongiurare il pericolo di esondazioni in caso di piena. I nuovi dormitori furono quindi stabiliti nel Parco Ducale e nell'area dell'Ospedale Maggiore; mentre però il Parco Ducale è poco frequentato, l'Ospedale ed il piazzale della stazione ferroviaria sono i più utilizzati dagli storni. Il Servizio Ambiente del Comune di Parma ha deciso di intervenire in questi luoghi sotto la pressione delle ripetute lamentele dei cittadini per il rumore del cinguettio serale e notturno e per l'odore irrespirabile del guano accumulatosi sotto i dormitori. Come mezzo di controllo è stato impiegato un sistema a suoni ed ultrasuoni denominato "Biosound", che farebbero vibrare i muscoli e lo scheletro agli uccelli, inducendoli ad andarsene. Dopo un primo intervento risultato efficace nell'area dell'Ospedale Maggiore, gli emettitori sonori sono stati posti sui platani di Piazzale Dalla Chiesa ed il 18 settembre, al tramonto, sono stati messi in funzione. Il 22 settembre soltanto due platani, protetti da edifici, davano ancora rifugio a qualche centinaio di uccelli.

A fronte del successo ottenuto, è comunque necessario precisare che il sistema potrà essere ritenuto efficace per la città se ne verrà dimostrato l'effetto positivo nel lungo periodo (basso numero di interventi totali per la risoluzione definitiva del problema) e se gli storni abbandoneranno la città o si sposteranno in luoghi ove non recheranno disturbo.

## Le antropozoonosi

Le antropozoonosi sono definite dall'Organizzazione Mondiale della Sanità 'quelle infezioni che vengono trasmesse naturalmente tra gli animali vertebrati e l'uomo' (22,23). Per la trasmissione di tali patologie fra uomo ed animale, è necessario un opportuno contatto fra l'agente infettante e l'ospite e questo può avvenire per semplice contatto, per inalazione, per ingestione o tramite punture di insetti o acari vettori.

Le occasioni di trasmissione sono pressoché infinite e le categorie di persone interessate sono molteplici, anche se nel caso delle antropozoonosi aviari i più esposti sono i veterinari, gli ornitologi, gli avicoltori, i venditori di uccelli ed i tassidermisti dei musei. In realtà ogni episodio antropozoonosico rappresenta un caso a sé, e

qualsiasi attività lavorativa o del tempo libero (caccia, inanellamento) che preveda un contatto diretto od indiretto con gli uccelli può rappresentare un momento di potenziale contagio.

Categorie di persone che possono, più di altre, essere suscettibili ad ammalarsi una volta venute in contatto con agenti patogeni portati dagli uccelli, sono quelle con un sistema immunitario non del tutto efficiente, come bambini, anziani, diabetici, immunodepressi e gestanti (22,23,24).

Più in generale si può quindi affermare che è giustificabile il coinvolgimento di una specie aviaria nella trasmissione di una antropozoonosi quando le persone che si sono ammalate si siano trovate a vivere continuamente in prossimità di raggruppamenti notevoli di animali sicuramente portatori, infetti o ammalati di quella patologia.

Sebbene qualche studio sia stato compiuto, non esiste purtroppo ancora una ricerca organica e duratura di monitoraggio microbiologico condotto su roost urbani di *Sturnus vulgaris*. Fra i vari lavori esistenti, quello di Weber (25) risulta, allo stato attuale, il più approfondito; in base a questo lo storno risulterebbe portatore, dimostrato o potenziale a seconda delle patologie, di diverse antropozoonosi.

#### Antropozoonosi batteriche

- **Mal rosso:** in una ricerca condotta su 57 specie di uccelli, soltanto lo storno è risultato portatore della patologia (il 5% scarso degli uccelli esaminati); il contagio è potenziale.
- **Paratifo:** sono stati individuati soggetti infetti in New Jersey; il contagio è potenziale.
- **Pasteurellosi:** storni infetti sono stati trovati ad Oxford (New Jersey), in ragione del 5% del campione esaminato; *Pasteurella multocida* è stata isolata nelle feci e nell'essudato nasale; è probabile la contaminazione di acqua e cibo con le feci.
- **Salmonellosi:** lo storno è definito portatore e sorgente di infezione oltre che per gli animali domestici, anche per l'uomo; *Salmonella hassarek* è stata isolata sia nello storno che nell'uomo; il contagio è potenziale.
- **Tubercolosi aviare:** è provocata da *Mycobacterium avium-Mycobacterium intracellulare* (MAI) e colpisce sia l'uomo che le specie aviarie domestiche e selvatiche; anche bovini e suini possono essere interessati. La via di entrata di questi batteri nell'organismo non risulta ancora chiaramente definita. Il MAI è stato trovato in suolo e acqua ed è stato isolato in feci, cavo orale e intestino dei soggetti ammalati. Nell'uomo la patologia si può manifestare come infezione primaria o come riattivazione di una infezione pregressa silente ed è favorita da stati di immunodepressione dell'organismo (26). In riferimento a *Sturnus vulgaris*, non sono mai stati accertati casi di trasmissione di TBC aviaria all'uomo, sebbene il MAI sia stato più volte isolato nello storno (4,25,27). La trasmissione deve perciò ritenersi potenziale.

#### Antropozoonosi micotiche

- **Blastomicosi:** campioni di feci di storni in età avanzata hanno stimolato la crescita del fungo e la produzione delle spore; il contagio è potenziale (vedi Istoplasmosi).
- **Istoplasmosi:** l'agente eziologico è *Histoplasma capsulatum*, un fungo che contamina l'ambiente e l'aria ed è trasmesso per via aerea. Il suolo è il serbatoio naturale del fungo e delle spore, che vengono inalate con la polvere che si solleva quando il terreno contaminato viene lavorato. Il fungo è stato isolato nelle feci stratificate di pipistrelli e storni. La malattia non è contagiosa e la sua insorgenza è favorita da carenze del sistema immunitario; è endemica in Nord e Sud America, ma sono stati registrati diversi casi anche in Europa ed Asia (28). La patologia si presenta in forma polmonare, oculare o generalizzata. Lo storno non viene infettato a causa della sua elevata temperatura corporea (29). Alcuni casi di trasmissione antropozoonosica si sono verificati negli Stati Uniti (25,30).

#### Antropozoonosi protozoarie

- **Toxoplasmosi:** *Toxoplasma gondii*, l'agente eziologico della patologia, è stato isolato (direttamente od indirettamente) dagli storni da diversi autori (25,31,32). In alcuni casi i tessuti cerebrali degli uccelli morti sono stati in grado di trasmettere la toxoplasmosi a topi di laboratorio; la trasmissione è potenziale.

#### Antropozoonosi da **Chlamidia**

- Clamidiosi o Psittacosi: la trasmissione è potenziale.

#### Antropozoonosi virali

- Encefalomielite equina dell'Est (EEE): è una malattia tipica degli Stati Uniti provocata da un Arbovirus. Colpisce l'uomo, il cavallo, il tacchino, l'anatra ed il fagiano. L'infezione in natura è trasmessa dalle zanzare agli uccelli selvatici, che sono considerati quindi serbatoi dell'infezione. Le zanzare sono anche responsabili della trasmissione uccello-uomo. Gli storni, negli U.S.A., sono risultati portatori di anticorpi anti-EEE e quindi sono considerati "ospiti-diffusori" della patologia.
- Malattia di Newcastle: è causata da un paramixovirus e si trasmette tramite aerosol da un individuo all'altro. E' una delle principali patologie degli allevamenti avicoli. Colpisce uccelli selvatici, polli, tacchini, fagiani, faraone, piccioni e anche l'uomo. Provoca forme influenzali e sono esposti al contagio soprattutto il personale di laboratorio, gli addetti alla macellazione degli avicoli e gli allevatori che utilizzano vaccini vivi per polli. Gli uccelli sinantropici (piccioni, passeri e storni) sono considerati potenziali trasmettitori. Gli storni, sia adulti che nidiate, sono risultati sperimentalmente in grado di sviluppare la patologia (33).

#### Antropozoonosi parassitarie

- Teniasi: l'ingestione da parte di *Sturnus vulgaris* di proglottidi gravidiche di *Taenia saginata* non determina sostanziali lesioni alla proglottide stessa, quindi l'uccello può essere considerato soltanto un possibile vettore del parassita dall'uomo al bovino; il rischio è da considerarsi puramente teorico.
- Capillarasi: è causata da vermi tondi del genere *Capillaria* e l'uomo può essere, in qualche caso, un ospite. Lo storno è colpito dalla patologia, ma la trasmissione all'uomo non è accertata.

#### Antropozoonosi da acari

- Dermatite da acari: colpisce l'uomo, gli uccelli e gli animali domestici. L'acarasi dell'uomo interessa generalmente la pelle e si può verificare quando gli uccelli che utilizzano i tetti per riprodursi lasciano il nido e gli acari rimangono senza il nutrimento costituito dal sangue da suggerire. Questi parassiti possono essere disseminati nelle abitazioni dagli impianti di condizionamento dell'aria. Le specie più frequentemente isolate sono *Dermanyssus gallinae*, *Ornithonyssus bursa* e *Ixodes ricinus*, che sono state anche trovate su *Sturnus vulgaris* (34). La trasmissione degli acari è quindi da ritenersi potenziale.
- Alveolite allergica: alcuni autori (24,29) hanno evidenziato la presenza della malattia nell'uomo indotta da antigeni aviari quali penne, polvere di penne, materiale fecale e dagli acari eventualmente presenti nel piumaggio. Questa patologia si manifesta negli individui sensibili e presenta forme acute (con tosse, dispnea, febbre e brividi), subacute (con tosse secca e dispnea) e croniche (dispnea, tosse non produttiva, perdita di peso e rantoli inspiratori).

#### Conclusioni

Il materiale bibliografico esaminato, le osservazioni sul campo e la ricerca promossa nei capoluoghi di provincia hanno contribuito a delineare un quadro preciso della situazione di *Sturnus vulgaris* in Italia. Nel nostro paese è confermata l'espansione dell'areale di distribuzione di questa specie che avviene con l'aumento delle nidificazioni, degli avvistamenti di individui e dei dormitori urbani. La tendenza all'espansione continua anche in Sud Europa, mentre nel contempo nei paesi scandinavi e del Nord Europa si assiste ad una diminuzione numerica; collegata ad una globale meridionalizzazione del suo areale di distribuzione. Nell'ambito di questa indagine è emerso come lo storno nidifichi sia in ambito urbano che rurale, sfruttando a tale scopo soprattutto le infrastrutture antropiche. A causa della sua attitudine a nutrirsi di prodotti agricoli, la specie viene mal vista dagli agricoltori. Non sempre però è *Sturnus vulgaris* l'unico responsabile dei danni e, ove questi sono di modesta entità, spesso non è giustificato economicamente l'uso di mezzi di protezione. Il controllo numerico degli invertebrati (ed in particolare della mosca dell'olivo) (19) che viene esercitato durante tutto l'anno, deve fare considerare attentamente il ruolo dello storno nell'ambiente rurale. *Sturnus vulgaris* sta rapidamente colonizzando anche l'ambiente urbano. Ciò avviene anche con l'aumento dei fenomeni di roosting (28 città ne sono interessate), anche se la sua dieta, in parte obbligatoriamente insettivora, gli preclude un inurbamento più spinto. Per fattori non completamente noti alcuni roost sono occupati per più stagioni di seguito, mentre altri sono utilizzati in modo irregolare o vengono abbandonati. Le sedi preferite dagli uccelli per i dormitori sono soprattutto alberi

ed arbusti, ma in diversi casi si è già verificato l'utilizzo di manufatti (come già avviene in altri paesi). L'uso dei dormitori nei mesi freddi e la ricerca di piante con foglie per il roost, sembrano confermare definitivamente la ricerca del caldo come una delle motivazioni che determinano la formazione dei grossi assembramenti notturni. Gli eventuali danni nei pressi dei dormitori urbani sono dovuti alle situazioni contingenti il dormitorio stesso. Ci sono problemi concreti in zone densamente abitate o presso scuole ed ospedali, ma vi sono anche dormitori che non creano alcun tipo di inconveniente.

Non esistendo dati recenti in merito alla situazione italiana, non è possibile dimostrare il coinvolgimento dello storno nella trasmissione di antropozoonosi; per quelle riferibili specificamente ad esso la trasmissione è perciò da ritenersi potenziale.

Parole chiave: storno, *Sturnus vulgaris*, dormitorio.

Key words: starling, *Sturnus vulgaris*, roost.

Mots clé: étourneau, *Sturnus vulgaris*, dortoir.

Riassunto- Lo storno (*Sturnus vulgaris* L.) sta spostando a Sud la sua zona di distribuzione in tutta Europa. A partire dagli anni '80 ciò si è verificato anche in Italia e lo si è notato con l'aumento delle nidificazioni e dei fenomeni di roosting nelle città. Dal 1994 al 1996 sono stati raccolti dati sulla nidificazione, sul prelievo di prodotti agricoli e sui dormitori di questa specie in Italia. Nel nostro paese c'è un aumento delle nidificazioni, che sono ugualmente divise tra campagna e città; il sito preferito per nidificare è il tetto. I prodotti agricoli di cui lo storno si nutre sono soprattutto l'uva, le ciliege, i cereali e le olive; queste informazioni sono le stesse già registrate da altri autori. Dei dormitori sono stati in particolare annotati i dati su dislocazione, specie arboree utilizzate, presenza di illuminazione e di traffico, danni ed eventuali mezzi di controllo. La localizzazione dei dormitori non segue sempre criteri precisi: vi sono roost protetti da palazzi ma anche situati su alberi isolati. Come dormitorio sono utilizzati spesso essenze arboree (soprattutto *Platanus spp.* e *Quercus ilex*), ma vi sono anche casi in cui sono sfruttate infrastrutture antropiche. L'adattabilità nel luogo di roosting è comunque elevata. Vi è uno spiccato fototropismo nella scelta del dormitorio, ma non si può dire lo stesso per i luoghi con traffico di veicoli. I mesi in cui i dormitori sono più utilizzati sono quelli più freddi, ma non sono rari dormitori già dalla tarda estate. I danni provocati dagli storni sono legati alle caratteristiche del dormitorio; ci sono inconvenienti in diversi centri storici delle città, in scuole e ospedali, ma alcuni dormitori non portano alcun tipo di disagio. I mezzi di controllo adottati, quando si sono dimostrati efficaci, hanno spostato gli uccelli, ma non hanno risolto definitivamente il problema. Non esistendo un lavoro di monitoraggio microbiologico condotto sotto i dormitori in Italia, non è possibile riferire alcun episodio antropozoonosico legato a *Sturnus vulgaris*. A questo scopo è possibile consultare la bibliografia straniera esistente in merito allegata al presente lavoro.

Summary - The Starling (*Sturnus vulgaris* L.) is moving South its range of distribution in all Europe. Beginning from the years eighty this has also been recorded in Italy, and it has been noticed with the increase of the nest buildings and roosting cases in the cities. From 1994 to the 1996 we have collected data on the nest-buildings, consumption of agricultural produce and roosting areas of this bird in Italy. In our country there is an increase of the nest-buildings, that are equally shared among country and city; the preferred site for the nesting is the roof. The agricultural products feeding by starlings are above all grapes, cherries, cereals and olives; such data are also those already recorded from other authors. About the roosts there has been recorded the sites, the arboreal essences, the presence of illumination and traffic, the damages, and the bird control systems used. The site of the roosting area doesn't always follow precise criteria; there are some roosts protected by buildings but also situated on isolated trees. Most of the roosting areas are on trees (above all *Platanus spp.* and *Quercus ilex*), but there are few cases in which the starlings have used human infrastructures. The adaptability in the place of roosting is however elevated. There is a strong research for the presence of traffic lights in the choice of the roost, but we cannot say the same for the places with traffic. The months in which the starlings use more the roosting places are the cold ones, but some roosting areas are already used in the late summer. The damages aroused from the starlings (noise and droppings), are bound to the own characteristics of the roost; there are problems in different city centers, schools and hospitals, but there are also roosts that don't bugged any type of problem. The bird control systems adopted against the starlings, when they have been demonstrated effective, have only moved the birds away, but they have not solved the problem definitely. Since it doesn't exist a work of microbiological monitoring conducted under the starling roosts in Italy, it's not possible to report any episode of disease transmission from starlings to humans. For this purpose is possible to consult the foreign bibliography in worth that has been alleged in this article.

Résumé - L'étourneau (*Sturnus vulgaris*) est en train de déplacer sa zone de distribution dans toute l'Europe. Dès les années '80 ce déplacement s'est vérifié même en Italie et on l'a remarqué grâce à l'augmentation des nidifications et des phénomènes de roosting dans les villes. De 1994 à 1996 on a recueilli des données sur la nidification, sur le prélèvement des produits agricoles et sur les dortoirs de cette espèce en Italie. Dans notre pays il y a une augmentation des nidifications qui sont dans la ville; le lieu préféré pour nidifier est le toit. Les produits agricoles, qui sont la nourriture de l'étourneau sont surtout le raisin, les cerises, les céréales et les olives; ces informations sont les mêmes déjà enregistrées par d'autres auteurs. Des dortoirs on a particulièrement noté les données sur déplacements, espèces arbres utilisées, présence d'illumination et de trafic, dommages et éventuels moyens de contrôle. La localisation des dortoirs ne suit pas toujours des critères précis: il y a des roosts protégés par des immeubles, mais aussi placés même sur des arbres isolés. Souvent, comme dortoir, sont utilisés des arbres (surtout *Platanus spp.* et *Quercus ilex*), mais il y a aussi des cas dans lesquels sont utilisées des infrastructures humaines. La faculté d'adoption dans le lieu de roosting est assez élevée. Dans le choix du dortoir il y a un phototropisme bien marqué, mais on ne peut pas dire la même chose pour les lieux avec trafic de véhicules. Les mois dans lesquels les dortoirs sont spécialement utilisés les mois froids, mais il n'est pas rare de trouver déjà des dortoirs à partir de l'été avancé. Les dommages provoqués par les étourneaux sont liés aux caractéristiques du dortoir; il y a des problèmes dans plusieurs centres historiques des villes, dans les écoles et les hôpitaux, mais quelques-uns d'entre eux ne donnent aucun type de gêne. Les moyens de contrôle adoptés, lorsqu'ils se sont démontrés efficaces ont

fait déplacer les oiseaux, mais ils n'ont pas résolu définitivement le problème. Puisqu'il n'existe pas un travail de monitoring microbiologique concernant les dortoirs en Italie, il n'est pas possible de rapporter des épisodes antrozoonotiques liés au *Sturnus vulgaris*. Dans ce but on peut consulter la bibliographie étrangère concernant ce sujet annexée à ce travail.

Ringraziamenti: gli AA ringraziano il Prof. E. Bottarelli dell'Istituto di Microbiologia per aver letto e commentato la parte relativa alle antrozoonosi.

## BIBLIOGRAFIA

1. Richardson D. (1992) Starlings, why they have been so successful? *Afr. Wildlife*, 5, 207-210.
2. Schneider D. (1990) Starling wars: on the centenary of its arrival in North America, *Sturnus vulgaris* is still awaiting a welcome. *Nature Canada*, 4, 33-37.
3. Beecher W. J. (1978) Feeding adaptations and evolution in the Starlings. *Bull. Chicago Acad. Scien.*, 11, 269-298.
4. Feare C.J. (1984) *The Starling*. Oxford University Press, Oxford, New York.
5. Dehaven R.W., Guarino J.L. (1970) Breeding of Starlings using nest boxes. *Color. Field Ornith.*, 8, 1-10.
6. Emmerson K., Martin A., Ballacado J.J. (1982) El estornino pinto (*Sturnus vulgaris*) en Canarias: nueva especie nidificante en el archipiélago. *Doñana Acta Vert.*, 9, 408-409.
7. Motis A., Mestre P., Martínez A. (1981) La colonización y expansión del estornino pinto (*Sturnus vulgaris* L.) y del estornino negro (*Sturnus unicolor Temm.*) en Cataluña. *Miscél. Zool.*, 7, 131-137.
8. Yeatman L. (1976) Atlas des oiseaux nicheurs de France de 1970 à 1975. Ministère de la qualité de la vie, Paris.
9. Fraissinet M. (1988) Atlante degli uccelli nidificanti in Campania (1983-1987). A.S.O.I.M. e Assess. Agricoltura, Caccia, Pesca e Foreste della Campania.
10. Pasquali R. (1984) Le colonie nidificanti di Storno *Sturnus vulgaris*, nell'Italia centro-meridionale. *R.I.O.*, 54(3-4), 221-229.
11. Castiglia G., Tabarrini G. (1982) Stazioni di nidificazione dello Storno *Sturnus vulgaris* in alcuni distretti montani del comprensorio della Val Nerina, con riferimento alla recente espansione della specie nell'Italia centro-meridionale. *Uccelli d'Italia*, 7, 93-104.
12. Dinetti M. (1994) Atlante degli uccelli nidificanti a Livorno. Quaderni dell'ambiente n° 5, Comune di Livorno e Coop. Ardea, Livorno.
13. Meschini E. (1993) Progetto Atlante Italiano. Suppl. alle ricerche di biologia della selvaggina dell'I.N.F.S. "A. Ghigi".
14. Dolbeer R. A., Stickle A.R., Woronecki P.P. (1978) Starling, *Sturnus vulgaris*, damage to sprouting wheat in Tennessee and Kentucky, USA. *Prot. Ecol.*, 1, 159-169.
15. Fortuna P. (1991) Studio sull'alimentazione della popolazione di Storni svernante nella città di Roma. *Avocetta*, 15, 25-31.
16. Stevens J. (1984) Foraging success of adult and juvenile Starlings *Sturnus vulgaris*: a tentative explanation for the preference of juvenile for cherries. *Ibis*, 127, 341-347.
17. Sziji J. (1957) A seregely taplakozasbiologiaja es mezogazdasag: jelentesege. *Aquila*, 63, 71-101.
18. Feare C.J. (1989) The Changing Fortunes of an Agricultural Bird Pest: The European Starling. *Agric. Zool. Rew.*, 3, 317-342.
19. Fortuna P., Alleva E. (in stampa) Analisi dei metodi di controllo delle popolazioni urbane di Storno, *Sturnus vulgaris*. *Acta Medica Vet.*
20. Montemaggiori A., Calvario E., Sarrocco S. (1988) Sviluppi e risultati della ricerca sullo Storno, *Sturnus vulgaris*, a Roma. Atti IV Conv. Ital. Orn., Il Nat. siciliano, 12 (Suppl.).
21. Cignini B., Battisti C., Buscemi A., Martina A. (1995) Prima campagna di controllo della popolazione di storni *Sturnus vulgaris* svernanti nella città di Roma (1994-1995). In: Fasola M., Saino N. Atti del VIII Conv. Ital. di Ornith., *Avocetta*, 19 (1), 20.
22. Cooper J. E. (1990) Bird and zoonoses. *Ibis*, 132, 181-191.
23. Morosetti G., Molè S. (1992) Note sul ruolo degli animali selvatici nell'epidemiologia delle zoonosi. Rapporti di Sanità Pubblica Veterinaria, Centro di Collaborazione OMS/FAO per la Ricerca e la Formazione in Sanità Pubblica Veterinaria, I.S.S., Roma.
24. Harris J.M. (1991) Zoonotic diseases of birds. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.*, 21 (6), 1289-1298.
25. Weber W.J. (1979) Health hazards from Pigeons, Starlings and English Sparrows. Thomson Publ., Fresno (California).
26. A.A.V.V. (1995) AIDS Surveillance in Europe, Quarterly report n°47. Hôpital National De Saint Maurice, Centre Européen pour la Surveillance Epidémiologique du SIDA, WHO-EC Collaborating Centre on AIDS.
27. Hejlíček K., Tremel F. (1993) Vyskyt aviární mycobacteriízy u volně zjičho ptactva v ruznych epizootologických poměrech tuberculózy drubeze. *Vet. Med. Czech.*, 38 (5), 305-317.
28. Grigoriu D., Delacretaz J., Borelli D. (1984) *Traité de Mycologie Médicale*. Ed. Payot, Losanna.
29. Rigato R. (1990) Il problema delle popolazioni urbane di Storno, con cenni su alcune proposte operative. Atti Seminario I.S.S. 1-12/09/1990, Roma.
30. Powell K.E., Hammerman K.J., Dahl B.A., Tosh F.E. (1973) Acute reinfection pulmonary histoplasmosis. A report of six cases. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 107 (3), 374-378.
31. Peach W., Fowler J., Hay Y. (1988) Serological and parasitological for Toxoplasma in European Starlings. *Dev. and Comp. Imm.*, 1989, 13, 433; 4th ISDCI Congress, Nottingham, UK: 24-29 July.
32. Peach W., Fowler J., Hay Y. (1989) Incidence of Toxoplasma infection in population of European Starlings *Sturnus vulgaris* from Central England. *Ann. Trop. Med. Paras.*, 83, 173-177.
33. Pearson G.L., McCann M.K. (1975) The role of indigenous wild, semi-domestic and exotic birds in the epizootiology of velogenic viscerotropic Newcastle disease in Southern California (1972-1973). *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 167, 210.
34. Bernard J., Biesemans W. (1986) Ectoparasites of birds in Belgium. *Bull. et Ann. de la Soc. Roy. Belge d'Entom.*, 122 (9-12), 269-271.

## 1. Introduzione

Nelle società sviluppate il soddisfacimento dei bisogni primari è stato ampiamente raggiunto ed i consumatori sono alla ricerca di altre forme di appagamento dei bisogni emergenti.

All'obiettivo della quantità dei consumi si sta affiancando quello della qualità e dei modelli di vita più appaganti. La salubrità dei prodotti diventa un obiettivo irrinunciabile, nel momento in cui esiste la disponibilità economica per farvi fronte.

L'agricoltura è chiamata a soddisfare i nuovi bisogni, che non si limitano alle produzioni alimentari ma che comprendono in senso lato anche l'ambiente naturale in cui i prodotti sono stati ottenuti. Da qui il ripensamento del ruolo dell'agricoltura nel complessivo sistema sociale ed economico di ogni Paese.

La stessa Comunità Europea, oggi Unione Europea, si è fatta carico del problema in un crescendo di attenzione: in un primo momento questi aspetti erano stati collocati nell'ambito delle "misure di accompagnamento", mentre oggi sono diventati addirittura l'obiettivo prioritario nei programmi dell'Unione Europea.

L'obiettivo dell'agricoltura legato esclusivamente alle tradizionali funzioni produttive viene sostituito da un ruolo polifunzionale nel quale il settore primario diventa protagonista della gestione del territorio e della salvaguardia dell'ambiente.

La filosofia è quella della sostenibilità e della valorizzazione delle risorse naturali, con il mantenimento di determinati equilibri che i produttori agricoli sono stimolati a perseguire grazie a forme di compensazione per i nuovi servizi prestati.

Tra le nuove opportunità produttive che hanno trovato il sostegno da parte dell'Unione Europea figura anche l'agricoltura biologica.

La nuova tecnologia produttiva si prefigge di escludere l'impiego dei prodotti chimici di sintesi e l'adozione di sistemi produttivi "soft", valorizzando al massimo le risorse territoriali, ambientali e naturali.

E' la presa di coscienza delle gravi ripercussioni nell'uso e nell'abuso di certi mezzi produttivi e tecnologici sulla qualità dei prodotti alimentari, sulla salute dell'uomo e in generale sulla qualità della vita, che ha spinto i consumatori a modificare il paniere della domanda e i produttori a soddisfare le nuove richieste.

I consumatori si orientano verso prodotti agricoli e derrate alimentari ottenuti con tecniche di produzione basate su uno sfruttamento meno intensivo della terra e degli animali. Il ritorno a metodi tradizionali di produzione comporta un aggravamento dei costi aziendali che si riflettono in una crescita dei prezzi di mercato.

E' la disponibilità di una fascia di consumatori più abienti a pagare prezzi più elevati per questi prodotti che ha stimolato l'interesse degli imprenditori agricoli ad intraprendere la strada dell'agrobiologia.

Nello stesso tempo i metodi biologici di produzione hanno una ricaduta positiva sull'ambiente, sugli equilibri naturali e sulla compatibilità delle risorse. Sono benefici che si riflettono sull'intera collettività.

Ridurre lo sfruttamento delle risorse significa una minore produttività agricola. Per l'Unione Europea significa minore sostegno finanziario pubblico alle eccedenze produttive, con risparmi sul bilancio comunitario e ricadute positive in campo ambientale.

Quale occasione migliore per la UE di incentivare le produzioni a minor impatto ambientale, visti i riflessi positivi sulla qualità e la salubrità dei prodotti e la salvaguardia degli equilibri ambientali!

Da questo momento le produzioni biologiche escono da una posizione d'élite per occupare spazi mercantili sempre più ampi. Era arrivato il momento per dare una normativa comune al metodo di produzione biologico a salvaguardia dei consumatori e rendere trasparente il mercato, anche nei confronti di produttori agricoli dei diversi paesi europei.

Pertanto, il metodo biologico di produzione trova la sua disciplina comune con l'emanazione del Regolamento CE n. 2092/91.

In base all'art. 1, paragrafo 1, il provvedimento si applica ai "prodotti agricoli vegetali non trasformati; inoltre agli animali e prodotti animali non trasformati, nella misura in cui siano stati introdotte, ... norme di base sulla produzione e le correlative norme specifiche di controllo".

L'art. 1, paragrafo 2, prevedeva la presentazione, entro il 1° luglio 1992, di una proposta di normativa specifica riguardante "i principi e le misure specifiche di controllo applicabili alla produzione biologica degli animali, dei prodotti animali non trasformati e dei prodotti destinati all'alimentazione umana contenenti ingredienti di origine animale".

Purtroppo, a tutt'oggi, la normativa non è ancora stata prodotta e non ci è dato sapere quando la regolamentazione sulle produzioni biologiche animali potrà vedere la luce.

Ciononostante anche le produzioni biologiche animali hanno ragione di esistere, nonostante alcune interpretazioni contrarie sorte agli inizi, grazie al Regolamento CE n.

1532/92 che ha modificato con l'art. 1, l'allegato I del Regolamento CE n. 2092/91 con l'aggiunta "... gli animali devono essere allevati secondo le norme nazionali che disciplinano la zootecnia biologica o, in mancanza di tali norme, secondo pratiche riconosciute a livello internazionale", in attesa dell'emanazione di una normativa specifica.

In mancanza di regolamentazioni a livello di singoli paesi o di singole regioni, si può fare riferimento alle normative IFOAM (International Federation of Organic Agriculture Movements) e a quelle degli Organismi di controllo che ricalcano la normativa internazionale.

Attualmente operano in Italia otto Organismi di controllo che sono stati riconosciuti con decreti del dicembre 1996 dal Ministero delle Risorse Agricole.

Il sostegno comunitario alle produzioni biologiche si è tradotto in una normativa specifica con il Regolamento CE n. 2078/92 (metodi di produzione agricola compatibili con le esigenze di protezione dell'ambiente e con la cura dello spazio rurale) che estende i suoi aiuti a tutta una serie di interventi per rendere più ecocompatibile l'attività agricola in genere.

Gli incentivi finanziari sono rivolti a compensare gli agricoltori per le esternalità positive prodotte con l'agricoltura ecocompatibile a favore della società in generale.

Sembra che il mondo agricolo abbia colto con favore queste forme di aiuto, infatti la diffusione dell'agrobiologia, come si vedrà successivamente, avviene a ritmi molto accelerati.

Si tratterà di vedere se anche il mercato al consumo sarà in grado di assorbire la crescita di offerta di prodotti biologici senza penalizzare i prezzi.

## 2. Dinamica delle produzioni biologiche

Le produzioni biologiche in Italia hanno una storia assai recente. I primi dati disponibili sono quelli raccolti dagli Organismi di rappresentanza, non esistendo una rilevazione statistica ufficiale.

Nel 1988 le aziende biologiche attive in Italia, secondo Nomisma, sarebbero state 800 con una superficie di 6.000 ettari. Si trattava principalmente di cerealicoli ed ortofrutticoli, il comparto zootecnico era necessario per assicurare il fertilizzante naturale alle colture, anche se la sua presenza non era molto diffusa.

Altre indagini portarono a stimare consistenze decisamente maggiori, senza per altro fare riferimento a rilevazioni censuarie, ma ad estrapolazioni su dati campionari.

Le rilevazioni acquistano una veste ufficiale grazie all'obbligo di registrazione presso il MiRAAF delle aziende dedite alle produzioni e alle trasformazioni di prodotti biologici, in seguito all'introduzione del Regolamento CE n. 2092/91.

Infatti, secondo la normativa comunitaria, chi intende praticare il metodo dell'agricoltura biologica ed immettere sul mercato i propri prodotti col marchio "biologico" deve avere un riconoscimento ufficiale ed ottenere una certificazione degli Organismi di controllo. Solo da quel momento l'azienda può essere considerata biologica a tutti gli effetti.

I dati statistici più recenti forniti dal MiRAAF sono riferiti al 1996. Il numero delle aziende biologiche è vicino alle 14.000 unità complessive, con ritmi di crescita decisamente strabilianti rispetto al 1988, quando se ne contavano solamente 800 unità. Nelle aziende censite sono comprese anche 950 imprese che svolgono attività di trasformazione, in tutto o in parte.

REGIONE	Aziende n	Superficie (ha)		Totale
		Biologica	In conversione	
Piemonte	495	2.969	1.804	4.773
Valle d'Aosta	2	310	0	310
Lombardia	260	5.193	2.197	7.391
Trentino A.A.	182	980	56	1.036
Veneto	814	3.324	3.275	6.599
Friuli V.G.	151	379	276	655
Liguria	56	190	25	215
Emilia Romagna	1.005	9.223	8.617	17.840
Toscana	613	10.519	8.729	19.248
Umbria	239	1.996	4.110	6.106
Marche	735	5.724	5.852	11.576
Lazio	551	5.062	8.099	13.161
Abruzzo	132	860	962	1.822
Molise	230	1.043	1.947	2.990
Campania	276	892	1.378	2.270
Puglia	760	4.102	12.650	16.752
Basilicata	67	2.458	1.117	3.574
Calabria	267	1.762	1.597	3.359
Sicilia	5.838	31.458	75.359	106.816
Sardegna	1.264	2.540	47.036	49.576
<b>ITALIA</b>	<b>13.937</b>	<b>90.985</b>	<b>185.085</b>	<b>276.069</b>

\* Fonte: MiRAAF

Tab. 1 - Aziende biologiche e superficie in Italia (al 30.4.1996)\*

La relativa superficie ha raggiunto i 276.000 ettari, con ritmi di crescita ancora maggiori rispetto alle aziende, considerato che erano 6.000 ettari nel 1988. Anche la dimensione media delle aziende si è ampliata, passando da poco più di 7 ettari a quasi 20 nel 1996.

Ancora una volta gli imprenditori agricoli italiani hanno dimostrato di saper cogliere con maggiore rapidità, rispetto ad altri, le nuove opportunità offerte dal mercato. E' solo il caso di ricordare la produzione del Kiwi, coltura sconosciuta fino a poco tempo fa ai nostri agricoltori, per la quale il nostro Paese è diventato oggi il maggiore produttore mondiale.

In realtà non tutta la superficie interessata alle produzioni biologiche è già pronta per essere certificata, i due terzi sono ancora in fase di conversione. Ciò significa che ultimamente più di espansione si può parlare di esplosione del biologico.

Il fattore scatenante è stato il Regolamento CE n. 2078/92 con il quale sono stati previsti finanziamenti di sostegno alle produzioni a minor impatto ambientale, in primis all'agricoltura biologica. I primi finanziamenti sono stati erogati nel 1995, ben si comprende quindi l'esplosione delle adesioni al metodo biologico di produzione rilevate nel 1996.

La superficie agricola utile interessata alle produzioni biologiche non raggiunge il 2% della SAU nazionale. Si tratta comunque di una meta importante, considerato che nel 1988 non si raggiungeva l'un per mille.

La diffusione non è omogenea a livello nazionale. Ben il 42% delle aziende e il 39% della superficie sono attribuite alla Regione Sicilia. Sembrerebbe una situazione anomala, anche se il dato conferma la posizione preminente che la Regione aveva già assunto negli anni precedenti. Trattasi infatti di agrumi e prodotti ortofrutticoli che hanno alimentato un vivace mercato verso la Germania.

Anche la Sardegna sta seguendo le orme della Sicilia, è infatti al secondo posto con il 9% delle aziende e il 18% della superficie. Al terzo posto figura l'Emilia Romagna con il 7% delle aziende e solo il 6% della superficie.

Si osserva quindi una distribuzione alquanto disomogenea sul territorio, tanto che il 63% delle aziende si colloca nelle regioni meridionali. Ci dobbiamo aspettare una distribuzione più diluita nei prossimi anni, quando tutte le regioni avranno dato attuazione alla normativa comunitaria.

La ripartizione delle superfici biologiche per ordinamento produttivo indica che il 36,6% del totale riguarda le foraggere, seguito dal cerealicolo (27,4%) e dall'ortofrutticolo (10,8%), mentre rivestono una quota ancora modesta le altre destinazioni colturali.

La presenza di oltre un terzo della superficie a colture foraggere significa che anche la componente zootecnica della produzione è in fase di espansione. Potrebbe esserlo ancora di più se venisse data attuazione alla specifica regolamentazione comunitaria che era stata programmata sin dal 1992 e che a tutt'oggi non ha ancora visto la luce.

Rimane comunque eclatante il ritmo di espansione dell'agrobiologia in Italia rispetto ai partners europei. Dal 1988 al 1995, con riferimento alla CEE a 12, siamo passati dal 9% delle aziende biologiche al 43%, superando la stessa Germania (24%) e la Francia (14%) che erano in testa nel 1988.

STATO	Aziende (n)		Superficie (ha)		Variazione 88-95 (%)	
	1988	1995	1988	1995	Aziende	Superficie
Belgio	150	203	1.200	3.956	35	300
Danimarca	500	950	4.000	28.000	90	600
Francia	3.000	3.500	40.000	85.000	17	113
Germania	2.685	5.866	34.000	272.139	118	700
Grecia		500		3.500		
Irlanda	97	300	1.300	6.457	209	397
Italia	800	10.568	6.000	204.238	1.221	3.304
Lussemburgo	11	12	162	500	9	209
Olanda	410	582	3.400	13.000	42	282
Portogallo	34	120	320	3.000	253	838
Regno Unito	575	715	8.600	32.476	24	278
Spagna	350	1.000	2.700	20.300	186	652
Austria		18.144		293.877		
Finlandia		1.850		28.000		
Svezia		3.000		84.000		
CEE 12	8.612	24.316	101.682	672.566	182	561
CEE 15		47.310		1.078.443		

\* Fonte: Nomisma per il 1988; Lampkin (dati provvisori) per il 1995.

Tab. 2 - Aziende biologiche e superficie nell'Unione Europea\*

In complesso quindi, nella CEE a 15 nel 1995, sono interessate all'agricoltura biologica più di 47.000 aziende con oltre un milione di ettari coltivati. La superficie media aziendale è di 28 ettari, con in testa la Germania le cui aziende superano i 46 ettari.

La superficie media delle nostre aziende, si ripete, non arriva ai 20 ettari. E' comunque una dimensione decisamente superiore alla media nazionale, segno della propensione mercantile delle aziende interessate al metodo biologico di produzione.

Ci dobbiamo aspettare che nei prossimi anni la fase espansiva delle produzioni biologiche possa ulteriormente continuare, in armonia con l'organizzazione della domanda e per i cospicui incentivi finanziari pubblici che l'Unione Europea mette a disposizione per le produzioni agricolo-zootecniche a minor impatto ambientale.

### 3. La zootecnia biologica

Nonostante l'Unione Europea non abbia ancora dato corso alla normativa comune in tema di zootecnia biologica, i prodotti biologici di origine animale sono una realtà diffusa sul mercato. La normativa di cui al Regolamento CE n. 2092/91 fa riferimento alle produzioni vegetali. In effetti l'agrobiologia, soprattutto in Italia, ha interessato in un primo tempo le produzioni vegetali, mentre quelle animali e le relative trasformazioni hanno avuto modo di affermarsi più recentemente.

La mancata regolamentazione comunitaria delle produzioni biologiche animali ha rappresentato un freno alla loro diffusione, per l'incertezza in cui si sono venuti a trovare i primi produttori.

La zootecnia biologica può interessare diverse specie animali, dagli allevamenti bovini sino ad arrivare alle api, per ognuna delle specie in allevamento sono previsti particolari disciplinari di produzione, stabiliti da norme dei singoli Stati o dalle Regioni, in mancanza di questi le normative devono fare riferimento agli Organismi di controllo. Domani dovranno tutti uniformarsi alla regolamentazione comunitaria ormai in via di approntamento.

La specie che riveste maggiore importanza è quella bovina, in particolare per la produzione del latte. Il latte e i relativi derivati sono ormai reperibili su tutti i mercati italiani, mentre per la carne non esiste ancora uno specifico mercato del biologico, a motivo delle difficoltà di differenziare il prodotto biologico da quello convenzionale a livello di macelleria.

Qualcosa si sta comunque muovendo anche per la commercializzazione della carne biologica. Per quanto ci è dato sapere, la filiera del prodotto biologico "carne" si sta muovendo nella direzione dei piatti precotti, monodose, di elevato contenuto tecnologico, orientati ai "single", ma accessibili a tutti i consumatori.

E' la strada che consente di differenziare il prodotto biologico da quello convenzionale e di garantire il consumatore, per l'attività di certificazione degli Organismi di controllo, partendo dal produttore, passando per l'industria di trasformazione, la grande distribuzione sino ad arrivare al consumatore finale.

La presenza della zootecnia nelle aziende biologiche è la massima espressione di una agricoltura naturalistica, nella quale il ciclo della vita trova la sua conclusione e rigenerazione.

Per l'agricoltura biodinamica la presenza della zootecnia è considerata una condizione irrinunciabile, per la fertilizzazione naturale dei terreni.

In certi casi la zootecnia è considerato un "male necessario" per realizzare compiutamente l'agricoltura biologica, tanto più quella biodinamica.

L'allevamento biologico, si ripete, deve sottostare a regole specifiche, ad iniziare dalle produzioni vegetali per l'alimentazione del bestiame, alle strutture edilizie, alle condizioni ambientali in cui vivono gli animali, per finire alle cure sanitarie che escludono o limitano fortemente l'impiego di farmaci allopatici.

Senza dilungarci in questa sede sulle normative specifiche si rimanda, per ulteriori approfondimenti sugli aspetti tecnici della zootecnia biologica, alle norme applicative adottate dagli Organismi di controllo.

Basti qui ricordare che il presupposto dell'allevamento biologico è la produzione di alimenti con un unico metodo aziendale di produzione. Diviene pertanto naturale la conversione al metodo biologico di tutta l'azienda, come in effetti viene auspicato. Infatti, associando le produzioni vegetali biologiche con quelle animali si chiudono i cicli nutritivi del sistema agrobiologico con il reimpiego dei residui organici, in armonia con i fondamentali principi propugnati dal sistema biologico di produzione.

#### 4. Gli allevamenti bovini biologici

##### 4.1 Premessa

La presenza dei bovini nelle aziende biologiche non è sinonimo di allevamento biologico. Infatti la certificazione biologica si può limitare alle sole produzioni vegetali.

Anche gli studi del recente passato sull'agricoltura biologica si sono occupati in particolare delle produzioni vegetali, trascurando il comparto delle produzioni zootecniche considerate ancora marginali rispetto alle prime.

Più recentemente anche i prodotti biologici di origine animale stanno conquistando i consumatori, da qui l'interesse degli allevatori alla conversione dei loro allevamenti e dei ricercatori ad approfondire le nuove linee di sviluppo. In tale occasione abbiamo quantificato che nell'Italia Settentrionale operavano 90 aziende biologiche con bovini da latte o da carne. Sembrerebbe un numero limitato rispetto ai dati correnti sulla diffusione dell'agrobiologia.

In realtà dobbiamo considerare che la maggior parte delle aziende biologiche sono dedite alle produzioni vegetali, quelle con allevamento possono inoltre riguardare altre specie animali, la stessa presenza dell'allevamento bovino può essere tenuto fuori dalla conduzione biologica. Sta di fatto che dalle nostre indagini sul territorio, con l'appoggio degli Organismi di controllo, non ci è stato possibile trovare altre aziende con allevamento bovino biologico oltre a quelle rilevate.

La ridotta presenza della zootecnia nelle aziende biologiche ci viene, confermata anche da altre ricerche. Ad esempio in uno studio sull'agricoltura biologica in Sicilia [8], su 267 aziende indagate, solo una era dedicata alla zootecnia, di questa solamente il 2% della superficie era biologica, molto probabilmente il biologico interessava solamente alcune produzioni vegetali.

In un'altra ricerca sulle aziende biologiche in Umbria [25] risulta che su 69 unità rilevate solo il 30% era interessato all'allevamento bovino, al quale si aggiungevano altre specie (ovini, avicoli, caprini, equini e suini), non necessariamente allevate in forma biologica. Tant'è vero che la componente zootecnica di tutte le specie sulla PIV biologica si limita all'11,7%.

In Molise [19] su 46 aziende censite nella Provincia di Campobasso risulta che solo l'1% della SAU totale è dedicata agli erbivori. In effetti le aziende con allevamenti sono circa il 40%, di queste il 90% sono avicoli, il 4% suini, per cui i bovini non raggiungono il 2%.

Nel Lazio [19] risultano prevalenti gli indirizzi zootecnici tra le aziende biologiche con il 67% della SAU biologica. Se analizziamo i soli allevamenti di erbivori si scende al 22% delle unità presenti, senza per altro una suddivisione delle specie erbivore allevate. Sappiamo infatti che nella Regione sono molto diffusi gli allevamenti di ovini, pertanto la quota destinata ai bovini si contrae ulteriormente.

In Abruzzo [19] su 65 aziende sottoposte al regime di controllo biologico solo il 21% delle aziende ha un ordinamento produttivo rivolto alle foraggere e si possono

dedicare anche all'allevamento bovino, di più non ci è dato sapere. Il biologico conferma la tradizionale vocazione viticola e elicicola della regione.

Il quadro dell'allevamento biologico con bovini è destinato comunque ad una rapida espansione soprattutto nell'Italia Settentrionale. Basti ricordare che ai 12 allevamenti con bovini da latte da noi rilevati in Veneto nel 1995 [24] si è passati a 44 nel 1996 [5].

I ritmi di espansione del biologico, dopo l'entrata in pieno regime del Regolamento CE n. 2078/92, sono destinati ad accrescersi e ad interessare quote sempre maggiori della zootecnia bovina.

#### 4.2 Elementi strutturali per zona altimetrica

Noi ci siamo già interessati delle produzioni biologiche negli allevamenti bovini nell'ambito del Progetto Finalizzato RAISA del CNR. In questa occasione intendiamo approfondire alcuni aspetti che legano la zootecnia biologica al territorio.

Gli allevamenti presi in esame sono 90, di cui 69 ad indirizzo lattifero e 21 da carne. Sono distribuiti in tutta l'Italia Settentrionale, dove anche la zootecnia bovina convenzionale trova la sua massima diffusione.

REGIONE	Aziende (n)				Superficie (ha)			
	Montagna	Collina	Pianura	Totale	Montagna	Collina	Pianura	Totale
Piemonte	1	9	2	12	11	298	23	331
Lombardia	23	6	13	42	410	304	732	1.446
Trentino A.A.	5	1	0	6	177	15	0	192
Veneto	7	1	4	12	642	18	88	747
Friuli V.G.	0	0	1	1	0	0	9	9
Liguria	1	0	0	1	12	0	0	12
Emilia Romagna	6	1	9	16	211	202	428	841
<b>TOTALE</b>	<b>43</b>	<b>18</b>	<b>29</b>	<b>90</b>	<b>1.462</b>	<b>836</b>	<b>1.280</b>	<b>3.578</b>

Tab. 3 - Aziende biologiche rilevate e superficie (SAU) per regione e zona altimetrica

La presenza di quasi la metà degli allevamenti (48%) nelle aree montane sottolinea due aspetti importanti:

- la maggiore facilità di conversione al biologico in aree nelle quali si può parlare di agricoltura biologica "di fatto", per il ridotto impiego di mezzi tecnici di origine mercantile e per le condizioni ambientali meno contaminate;

- l'importanza di valorizzare le risorse naturali nelle aree più difficili, a salvaguardia dell'ambiente e della permanenza di addetti nel territorio.

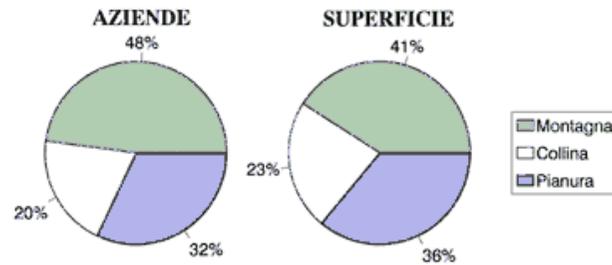
La scelta del biologico può rappresentare per le aree più disagiate un'ancora di salvezza al loro declino economico ed occupazionale.

La quasi totalità degli allevamenti bovini di montagna si dedica alla produzione di latte, in armonia con le risorse foraggere disponibili in loco.

Scendendo alla collina osserviamo il diffondersi anche degli allevamenti da carne, che in pianura trovano la loro maggiore presenza. Mentre in collina viene fatto uso del pascolo, in pianura i modelli dell'allevamento biologico tendono ad uniformarsi con quelli convenzionali, per la maggiore intensificazione produttiva.

La distribuzione sul territorio dell'agrobiologia è avvenuta a "macchie di leopardo". La presenza di più unità raggruppate nella medesima area sottintende che la scelta del metodo biologico è avvenuta per gruppi di allevatori (caseificio sociale). Sono realtà presenti sia nell'area alpina che in quella appenninica e rappresentano delle esperienze molto interessanti per affrontare più correttamente i nuovi problemi tecnici ed economici delle produzioni biologiche e quelli più in generale delle aree interne.

**Graf. 1 - Distribuzione delle aziende e della superficie per zona altimetrica (%)**



Gli allevamenti di pianura, oltre ad essere di dimensioni medie più elevate in termini di superficie lo sono anche in termini di consistenza media delle mandrie. Viceversa in montagna le mandrie sono più piccole ma con la presenza più elevata delle vacche (72%). Nelle zone orografiche non vi è alternativa alla zootecnia, pertanto la superficie è quasi tutta destinata alle foraggere.

In complesso il patrimonio zootecnico delle aziende biologiche è rappresentato da 5.350 capi grossi bovini, ai quali si aggiungono gli ovicaprini e i suini presenti in poche aziende. L'allevamento equino è legato all'attività agrituristica.

La strategia degli allevamenti di montagna è quella di valorizzare i loro prodotti con la trasformazione in azienda del latte e la vendita diretta dei prodotti lattiero-caseari. La diffusione dell'agriturismo accentua ulteriormente questa valorizzazione, con l'appropriazione di fasi successive di valore aggiunto che consente anche alle piccolissime aziende di raggiungere un budget che in altro modo non sarebbe possibile ottenere, vista la ristrettezza della maglia aziendale e la povertà delle risorse.

Gli allevamenti di collina e di pianura sono meno numerosi e di grande dimensione. Qui vi sono diffusi anche gli allevamenti da carne. In parecchi allevamenti la loro presenza si può definire "un male necessario" per consentire le produzioni biologiche vegetali, visto che la carne biologica non ha ancora un suo mercato.

DESCRIZIONE	Rifer.	Montagna	Collina	Pianura	Totale
<b>Aziende:</b>					
- totali	n	43	18	29	90
- da latte	n	42	10	17	69
- da carne	n	1	8	12	21
<b>Superficie (SAU):</b>					
- per azienda	ha	34,0	46,5	47,3	39,8
- per addetto	ha	15,7	20,6	12,9	15,4
- a foraggiare sulla SAU	%	98,1	74,9	54,7	77,2
<b>Addetti (ULU):</b>					
- per azienda	n	2,2	2,3	3,6	2,7
- familiari sulle ULU totali	%	83,6	75,6	49,7	67,3
<b>Capi grossi (UGB):</b>					
- per azienda	n	29,5	63,6	101,3	59,4
- per ettaro a foraggiare	n	0,9	1,8	3,6	1,8
<b>Vacche (UPL)*:</b>					
- per azienda	n	21,0	25,7	76,2	35,3
- per addetto	n	9,6	11,6	16,5	12,6
- sulle UGB	%	71,8	69,5	67,9	69,4
<b>Potenza macchine (HP):</b>					
- per azienda	n	138	226	361	228
- per ettaro	n	4,1	4,9	8,1	5,7
<b>Capitale agrario:</b>					
- per azienda	000 £	157.135	277.816	567.178	313.396
- per ettaro	000 £	4.621	5.980	11.369	7.349
- per addetto	000 £	72.420	123.170	155.612	117.720
- di cui bestiame	%	38,7	41,2	33,9	36,3
- di cui macchine	%	23,6	18,7	19,7	20,4
- di cui scorte e anticipazioni	%	37,7	40,1	46,4	43,3

\* Solo aziende lattifere.

Tab. 4 - Indici strutturali per zona altimetrica

Sono comunque gli allevamenti di lattifere che rivestono maggiore importanza. Infatti il 77% del latte prodotto proviene dalle aziende con oltre 50 vacche, che sono solo il 23% delle unità presenti e collocate principalmente in pianura. Sono questi gli allevamenti che forniscono la materia prima all'industria di trasformazione e che alimentano il grosso del mercato dei prodotti biologici lattiero-caseari.

La dotazione di capitale agrario mette in evidenza i diversi livelli di intensità agraria per zona altimetrica, dove la montagna si colloca al di sotto della metà delle dotazioni rispetto alla pianura.

Nonostante la presenza del capitale bestiame, l'incidenza maggiore sul capitale agrario è attribuibile nel campione ai capitali di scorta e a quelli di anticipazione; viceversa in pianura il primo si colloca sul 34%, mentre il secondo supera il 46%.

La spiegazione è riconducibile al maggior ricorso al mercato dei mezzi produttivi in pianura, per far fronte alla più elevata produttività dei capi e per l'insufficienza delle produzioni di alimenti in azienda.

In tutti i casi la capitalizzazione degli allevamenti biologici è di tutto rilievo, in armonia con il processo di industrializzazione dell'agricoltura, con il quale il capitale diventa il fattore produttivo emergente, a scapito della terra e del lavoro.

Gli indici strutturali riportati in tabella testimoniano che gli allevamenti biologici con bovini sono dotati di strutture decisamente superiori alla media delle aziende convenzionali.

Permane comunque un handicap tra aree più difficili rispetto a quelle più fertili di pianura, come per altro sussistono anche nelle aziende convenzionali.

La valorizzazione dei prodotti di montagna tramite l'agrobiologia può comunque ridurre il divario con la pianura, nel momento in cui la qualità dei prodotti e dell'ambiente

possono compensare, almeno in parte, gli handicaps delle aree difficili.

#### 4.3 Elementi economici per zona altimetrica

L'analisi economica degli allevamenti biologici ha messo in evidenza la notevole variabilità dei dati non solo per zona altimetrica ma anche all'interno della stessa area. Infatti i coefficienti di variabilità dei vari indici sono alquanto elevati. Il metodo biologico di produzione è di recente introduzione e richiede ancora la messa a punto delle tecniche e l'affinamento della gestione.

Ciononostante i risultati economici raggiunti sono di tutto rilievo con una produttività media per ettaro di 6,8 milioni di lire e per addetto di oltre 108.

Si mantiene elevato il divario tra zone altimetriche, con valori più che doppi in pianura rispetto alla montagna. I risultati economici ricalcano in sostanza i parametri strutturali.

La produzione animale rappresenta la quota prevalente (65%) della Produzione lorda vendibile (Plv), in seconda posizione non si trovano le produzioni vegetali (11%) bensì altre entrate (24%), che sono rappresentate dai contributi pubblici, dall'agriturismo, da prestazioni esterne ecc. La diversificazione delle entrate è una delle caratteristiche peculiari delle aziende biologiche rispetto a quelle convenzionali.

DESCRIZIONE	Rifer.	Montagna	Collina	Pianura	Totale
<b>Produzione (Plv):</b>					
- per azienda	000 £	145.798	258.430	519.904	288.870
- per ettaro	000 £	4.288	5.563	10.515	6.810
- per addetto	000 £	67.195	114.575	142.642	108.507
- animale sulla Plv	%	72,8	45,7	68,1	65,2
<b>Latte*:</b>					
- per vacca	q	44,4	56,4	66,5	57,4
- sulla Plv animale	%	81,8	89,4	90,7	87,9
<b>Spese:</b>					
- di reintegrazione sulla Plv	%	45,5	56,5	52,9	51,7
- concimi per ettaro	000 £	8	8	122	49
- presidi sanitari per ettaro	000 £	1	17	15	9
- medicinali per UGB	000 £	65	38	75	65
- mangimi per UGB	000 £	824	557	833	772
- foraggi per UGB	000 £	109	383	444	352
<b>Prodotto netto (Pn):</b>					
- per azienda	000 £	75.413	107.234	232.684	132.453
- per ettaro	000 £	2.218	2.308	4.950	3.215
- per addetto	000 £	34.756	47.542	63.839	49.753
- sulla Plv	%	51,7	41,5	44,8	45,9
<b>Reddito di lavoro familiare</b>					
- per azienda	000 £	44.760	47.144	68.890	53.012
- familiare	000 £	24.765	27.641	38.053	29.597
- per ora impiegata	Lire	10.178	11.372	17.680	12.664
<b>Costo di produzione del latte**</b>	000 £				
	al q	108	110	107	108
<b>Prezzo del latte**</b>	“	97	101	100	99
<b>Profito**</b>	“	- 11	- 9	- 7	- 9

\* Solo aziende lattifere. \*\*Con riferimento a 33 aziende lattifere.

Tab. 5 - Indici economici per zona altimetrica

Nelle aziende lattifere la specializzazione si presenta più spinta ed il latte si avvicina all'88% della produzione animale. In quelle da carne la componente zootecnica è solo un quarto della PIV. Qui la zootecnia è funzionale alle produzioni vegetali e si parla anche di "male necessario". Infatti la carne biologica non ha un mercato specifico, venendo commercializzata con quella convenzionale.

Le vacche da latte in montagna hanno una produttività media di 44,4 quintali rispetto ai 66,5 della pianura. La differenza è riconducibile alla povertà delle risorse delle zone orografiche, ma anche alle razze autoctone presenti e alle tecniche di conduzione dell'allevamento, come il pascolo.

La valorizzazione delle risorse alimentari foraggere dell'azienda è più accentuata in montagna, dove le spese di reintegrazione si limitano al 45,5% della PIV rispetto al 56,5% della collina e del 52,9 della pianura. In queste ultime zone le aziende sono più orientate ad attingere al mercato degli alimenti per far fronte alla maggiore produttività dei capi e alla dimensione della mandria.

Una delle peculiarità nelle produzioni biologiche è quella di escludere l'impiego di mezzi tecnici di sintesi chimica. Se andiamo a vedere le spese relative ai concimi e ai presidi sanitari vediamo infatti che la loro utilizzazione è alquanto limitata e si riferisce a prodotti ammessi dai disciplinari di produzione.

Il consumo più elevato di elementi fertilizzanti avviene in pianura ed è coerente con la diffusione delle colture vendibili, mentre in montagna non vi è alternativa alle foraggere e quindi gli impieghi di fertilizzanti e presidi sanitari è ridotto al minimo. Qui la disponibilità di foraggi consente di ridurre anche le relative spese mercantili. Per quanto riguarda l'impiego dei medicinali per il bestiame l'andamento dei costi è legato all'indirizzo produttivo (latte e carne), alla produttività dei capi e al tipo di stabulazione. La produzione di carne, il pascolamento e le razze autoctone comportano un minore impiego di medicinali. L'allevamento lattifero, l'elevata specializzazione e l'intensificazione produttiva rendono più precari gli equilibri sanitari del bestiame.

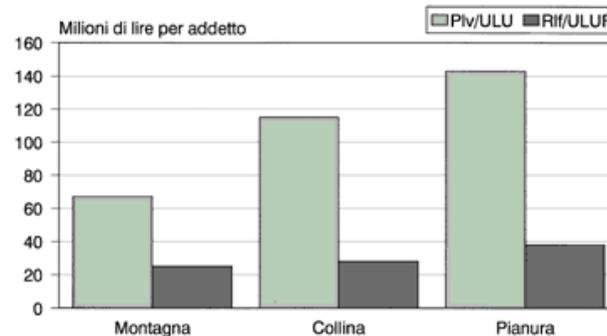
Il ricorso alla medicina omeopatica è in fase di espansione, ma ha ancora bisogno di verifiche e di riscontri pratici per sostituire i farmaci convenzionali.

Per ottenere 100 lire di produzione le aziende biologiche hanno dovuto sostenere 54 lire di spesa, pertanto la ricchezza mediamente prodotta è di 46 lire. In realtà i risultati variano per zona altimetrica: la montagna realizza 52 lire a fronte di 42 della collina e 45 della pianura.

La differenza si spiega con il minore ricorso al mercato dei mezzi produttivi da parte delle aziende di montagna; con la valorizzazione delle risorse proprie si cerca di contenere le spese e le esposizioni finanziarie verso terzi. La variabilità dei risultati che abbiamo riscontrato sino ad ora per zona altimetrica, tende ad attenuarsi se guardiamo alla redditività del lavoro per unità lavoratrice familiare.

Se togliamo al reddito netto i compensi per la terra in proprietà e per i capitali investiti ci rimane il reddito di lavoro della famiglia (Rif). Mediamente ogni azienda consente di compensare il lavoro familiare (ULUF) con 30 milioni di lire per addetto, pari a circa 13 mila lire per ora di lavoro.

**Graf. 2 - Produttività e redditività del lavoro**



Il risultato più significativo è il recupero di efficienza degli allevamenti di montagna con riferimento alla redditività del lavoro familiare. Infatti, con 25 milioni di lire per addetto si colloca solamente sotto il 16% alla media del gruppo, quando gli allevamenti di pianura realizzano il 29% in più della media.

In pratica il divario riscontrato in generale in tutti gli altri parametri tecnici ed economici tra pianura e montagna quantificato dal rapporto di 2 a 1, per quanto riguarda la remunerazione del lavoro il rapporto diventa di 1,5 a 1.

Il risultato è molto importante perché ci indica che con l'agrobiologia anche le aree svantaggiate possono migliorare le loro performance e consentire la permanenza in loco degli addetti.

Le condizioni sfavorevoli del clima e della fertilità dei terreni possono trovare una parziale compensazione nella qualità e salubrità dei prodotti, nella valorizzazione dei prodotti con le trasformazioni agricolo-zootecniche, nella vendita diretta al consumatore sino ad arrivare alla somministrazione nella ristorazione agrituristica.

L'agriturismo è lo sbocco naturale delle produzioni biologiche in montagna. E' il ritorno della domanda di beni e servizi presso le aziende che può risolvere il problema della emarginazione delle aree interne.

L'acquisizione di tutto il valore aggiunto da parte dei produttori e l'eliminazione dei costi per la commercializzazione dei prodotti fuori dall'azienda, consente anche alle piccole unità produttive di raggiungere budget soddisfacenti, pur non disponendo di una massa critica di materia prima.

E' la strada da percorrere per assicurare alle popolazioni di montagna livelli di reddito compatibili con la continuità d'impresa e la permanenza in loco delle famiglie.

La stessa domanda di beni delle famiglie agricole funziona da volano per la prosecuzione di altre attività economiche, in un circuito virtuoso che consenta alle comunità locali condizioni di vita comparabili con i nuovi modelli di vita sociale.

Tornando agli allevamenti di lattifere, abbiamo inoltre determinato il costo di produzione del latte relativamente a 33 unità produttive, circa la metà di quelle del campione. La contrazione del numero si è resa necessaria per rendere più omogeneo il gruppo, eliminando le unità produttive troppo piccole.

Il costo di produzione del latte si può ritenere analogo nei tre raggruppamenti. Ciò significa che il trattamento delle lattifere tende ad essere omogeneo, indipendentemente dalle zone altimetriche. Anche il prezzo realizzato per il latte non si discosta di molto tra le diverse aree.

I diversi livelli di redditività che abbiamo riscontrato sono riconducibili alle economie di scala, alla produttività dei capi, alle trasformazioni aziendali, all'agriturismo e al numero degli addetti.

In definitiva sembrerebbe che l'efficienza economica degli allevamenti in termini di costi del latte porti al livellamento delle aziende. In realtà queste conseguono livelli di redditività differenti in funzione delle dimensioni aziendali e della messa in opera di attività di valorizzazione della materia prima, il latte, operazioni successive alla determinazione del costo di produzione del latte.

La presenza di profitti negativi non deve stupire più di tanto, il settore agricolo in generale, operando in condizioni di price-taker, si trova in condizione di debolezza sul mercato. Questo vale per le produzioni convenzionali e per quelle biologiche.

## 5. Conclusioni

Il progresso tecnologico in agricoltura ha consentito di aumentare il volume delle produzioni sino a provocare nei paesi più sviluppati delle eccedenze rispetto ai fabbisogni.

I consumatori occidentali hanno modificato le loro aspettative: soddisfatte le esigenze primarie hanno rivolto la loro attenzione alla qualità dei prodotti, alla loro salubrità e ai modelli di vita più appaganti.

Nello stesso tempo è sorta la consapevolezza sulle conseguenze negative nel massiccio impiego di prodotti chimici di sintesi sulla qualità dei prodotti e sull'ambiente.

In questo contesto sono nati e hanno trovato diffusione nuovi modi di produrre, più rispettosi dell'ambiente e dei cicli naturali, in primis l'agricoltura biologica.

L'agricoltura biologica è stata ufficializzata con l'introduzione del Regolamento CE n. 2092/91 che ha fissato le regole comuni sul metodo di produzione. La normativa deve essere ancora completata per quanto riguarda le produzioni animali.

Con l'emanazione del Regolamento CE n. 2078/92 sono stati introdotti incentivi finanziari alle produzioni ottenute con metodiche a ridotto impatto ambientale, con particolare riferimento all'agricoltura biologica.

I produttori biologici si sono interessati in un primo tempo alle produzioni vegetali, più recentemente hanno dedicato la loro attenzione anche alle produzioni animali.

La necessità di conoscere queste realtà emergenti ci ha spinto a condurre delle ricerche specifiche sulle produzioni zootecniche biologiche, con particolare riferimento a quelle dei bovini.

Infatti, nell'ambito del Progetto Finalizzato RAISA del CNR, nel 1995, abbiamo tenuto sotto controllo contabile un gruppo di 90 allevamenti bovini, praticamente coincidente con la realtà esistente nell'Italia Settentrionale, per fare il punto della situazione e dare conto dei risultati economici conseguiti e sulle prospettive future.

In questa occasione abbiamo voluto approfondire meglio alcuni aspetti che legano la zootecnia biologica al territorio. Il nuovo modo di produrre rappresenta infatti una nuova opportunità per le aree interne, che rischiano l'impoverimento e l'abbandono.

L'analisi ha messo in evidenza che, grazie all'agrobiologia, gli allevamenti biologici con bovini nelle aree montane sono in grado di ampliare il budget dell'azienda ed assicurare alle unità lavoratrici rimaste un reddito soddisfacente per la prosecuzione dell'attività.

Nonostante la ridotta dimensione fisica dell'azienda è possibile acquisire quote successive di valore aggiunto (con la trasformazione dei prodotti, la vendita diretta, l'agriturismo ecc.) ed ampliare la dimensione economica.

Nelle aree di collina e soprattutto di pianura gli allevamenti biologici sono più grandi e possono avvalersi delle economie di scala. Sono questi allevamenti che riforniscono di materia prima le industrie di trasformazione e alimentano il grosso mercato dei prodotti biologici di origine animale in Italia.

Si tratta di produzioni biologiche lattiero-casearie, perchè la carne biologica non ha ancora trovato uno specifico mercato. Più frequentemente gli allevamenti da carne sono funzionali alle produzioni vegetali biologiche, per assicurare la fertilizzazione organica dei terreni.

L'analisi del costo di produzione del latte ha messo in evidenza che gli allevamenti bovini tendono alla standardizzazione: infatti i risultati non sono molto dissimili per zona altimetrica.

Possiamo concludere dicendo che la zootecnia biologica può rappresentare un valido strumento per rivitalizzare le aree interne e consentire la permanenza sul territorio della popolazione.

Parole chiave: Produzioni biologiche, bovini, territorio.

Key words: Organic production, cattle, territory

Mots-clés: Productions biologiques, bovins, territoire

RIASSUNTO - L'agrobiologia in Italia ha interessato in un primo tempo le produzioni vegetali, solo recentemente si è allargata a quelle animali. Il ruolo più importante è rivestito dalla specie bovina con la produzione di latte biologico per il consumo fresco o per ottenere prodotti trasformati, oppure incluso quale componente con altri prodotti biologici. Non è ancora sorto un mercato della carne biologica.

Dalle analisi condotte si prospettano due realtà territoriali ben distinte della zootecnia biologica:

- la montagna, con un numero elevato di allevamenti a conduzione familiare, di ridotte dimensioni, che valorizzano il latte con la trasformazione interna e la commercializzazione diretta dei prodotti in aree a grande flusso turistico;

- la pianura, con pochi allevamenti, di grande dimensione, che riforniscono di materia prima biologica l'industria di trasformazione e che alimentano il vero mercato dei prodotti biologici di origine animale in Italia.

La diffusione dell'agrobiologia nelle aree interne può rappresentare una valida soluzione per la valorizzazione delle risorse agricole e ambientali di questi territori, con la permanenza in loco degli addetti.

SUMMARY - Organic zootechnology and territory. In the past the Italian farm industry was concerned with vegetable produce, only recently has it expanded to include products of animal origin. The most important role is held by the bovine species with the production of milk for fresh consumption and for transformation into other products, or to be included as a component in other organic products. A market for organic meat has not yet arisen. Analysis conducted demonstrates that there are two distinct organic zootechnological territorial realities:

- the mountainous areas with a large number of small family run farms that use all the milk they produce and sell the products directly in areas where there are many tourists;

- the plain with a few large farms that supply the natural transformation industries with the raw material and which supply the main market for organic products of animal origin in Italy.

The spread of the farm industry to the internal areas could represent a valid solution for the exploitation of farm and environmental resources of these areas, creating permanent on site occupation.

RÉSUMÉ - Zootechnie biologique et territoire. Dans un premier temps, l'agriculture biologique en Italie a intéressé les productions végétales et c'est seulement récemment qu'elle s'est élargie à celles animales. Le rôle plus important est tenu par l'espèce bovine avec la production de lait biologique consommé frais ou transformé ou utilisé dans la composition d'autres produits biologiques.

Les analyses, font ressortir deux réalités territoriales bien distinctes de la zootechnie biologique:

- la montagne avec un nombre élevé d'élevages à conduction familiale, de dimensions réduites, qui traite le lait par la transformation interne et la commercialisation directe des produits dans des zones de grand afflux touristique;

- la plaine, avec peu d'élevages, de grandes dimensions, qui fournissent l'industrie de transformation de matière première biologique et qui alimentent le vrai marché des produits biologiques d'origine animale en Italie.

La diffusion de l'agriculture biologique dans les zones internes peut représenter une solution valide pour la mise en valeur des ressources agricoles et environnementales de ces territoires, avec la possibilité, pour les habitants, d'avoir un emploi sur place.

## BIBLIOGRAFIA

1. AA. VV. (1996). "Bio 97". Ed. Distilleria, Forlì.
2. ANSALONI F., SALGHETTI A. (1996). Latte biologico e derivati: l'organizzazione della filiera. In "Rivista di Economia Agro-Alimentare", n. 1.
3. BARTOLA A., POLLASTRI F., ZANOLI R. (1990). L'agricoltura biologica: produzione di qualità nel rispetto dell'ambiente. Il caso dell'Emilia-Romagna. In "Rivista di Economia Agraria", n. 3.
4. BERNI P., FABBRIS (1996). L'agricoltura biologica nel Veneto: aspetti economico-sociali e comportamenti d'impresa (a cura di). Istituto di Economia e Politica Agraria, Università di Verona, pubblicazione RAISA-CNR n. 2423, Arcadia Editore, Modena.
5. BOATTO V., BUSTAFFA R., REA G., SCUDELLER A., FAVRETTO M.R. (1997). Assetto produttivo dell'agricoltura biologica veneta. In "L'Informatore Agrario", n. 46.
6. CANNATA G., MERLO M. (1989). Agricoltura e ambiente. In "Inea, Annuario dell'agricoltura italiana". Vol. XLIII, Il Mulino, Bologna.
7. CANTARELLI F., TOSCANI M. (1992). Agricoltura biologica, Vol. I, II, III. Logos Ed., Milano-Roma.
8. CHIRONI G. (1995). Filiere atte allo sviluppo di aree collinari e montane: il caso dell'agricoltura biologica (a cura di). Dip. di Economia, Ingegneria e Tecnologie Agrarie, Settore Economia, Università degli Studi di Palermo, pubblicazione RAISA-CNR n. 2218.
9. COLUMBA P. (1995). La qualità nelle produzioni biologiche. Dip. di Economia, Ingegneria e Tecnologie Agrarie, Settore Economia, Università degli Studi di Palermo, pubblicazione RAISA-CNR n. 2444.

10. COMPAGNONI E. (1994). Il Parmigiano-Reggiano da agricoltura biologica. In "Bioagricoltura", n. 31.
11. DEL FABRO (1991). Caratteristiche strutturali dell'agricoltura biologica in Italia. In "Demetra", n. 25.
12. D'IGNAZI G. (1989). Esperienze e prospettive dell'agricoltura biologica nelle Marche. In "Prisma", n. 14.
13. DRAGHETTI A. (1991). Principi di fisiologia dell'azienda agraria. Edagricole, Bologna.
14. GREGORI M., PRESTAMBURGO M. (1996). Produzioni biologiche ed adattamenti d'impresa. F. Angeli, Milano.
15. KAISERMANN F. (1994). Zootecnia biologica in ambienti montani. In "Bioagricoltura", n. 31.
16. JACOPONI L., ANDREOLI M. (1987). Le implicazioni microeconomiche dell'introduzione di tecniche agronomiche alternative. In "Agricoltura e Ricerca", maggio, Roma.
17. LAMPKIN N.H. (1994). Organic farming: Sustainable Agriculture in Practice. In "The Economics of Organic Farming" (edited by LAMPKIN N.H.- PADEL S.). CAB International, Wallingford, UK.
18. MARINO D., SCHIFANI G. (1994). Primi risultati di una indagine sull'agricoltura biologica in Sicilia. In "Atti XXXI Convegno di Studi SIDEA", Campobasso.
19. MARINO D. (1996). Agricoltura biologica e sviluppo delle aree collinari e montane nel Centro Italia (a cura di). Pubblicazione RAISA-CNR n. 2743.
20. MOSSO A., PAGELLA M. (1992). Una indagine descrittiva sull'agricoltura biologica in Piemonte. In "Genio Rurale", n. 1.
21. NOMISMA (1997). Struttura e andamento del biologico in Italia nel 1996. In "Bio '97". Edizioni Distilleria, Forlì.
22. SALGHETTI A. (1995). Le produzioni biologiche di origine animale. In "Parma Economica", n. 4, C.C.I.A.A. di Parma, pubblicazione RAISA-CNR n. 2420.
23. SALGHETTI A., RIVA B. (1996). L'agricoltura convenzionale della provincia di Parma si confronta con quella biologica: un'analisi del biennio 1993/94. In "Parma Economica", n. 1, C.C.I.A.A. di Parma.
24. SALGHETTI A. (1997). Produzioni biologiche e convenzionali negli allevamenti bovini. Università degli Studi di Parma, Istituto di Economia Rurale e Zootecnia, pubblicazione RAISA-CNR n. 3010.
25. SANTUCCI F.M., CHIORRI M. (1996). Economia delle produzioni biologiche, il caso dell'Umbria. In "Quaderni dell'Istituto di Economia e Politica Agraria di Perugia", n. 19, pubblicazione RAISA-CNR n. 2.714.
26. SCHMID O. et al. (1994). Agricoltura biologica. Edagricole, Bologna.
27. ZIENNA P., FERRARI I., D'AGROSA G. (1995). L'agricoltura biologica in Basilicata. In "L'Informatore Agrario", n. 14.
28. FAO, FAC (1990). Biological farming in Europe (a cura di BESSON J. M.). Food and Agriculture Organization of the United Nations, Bern, May.
29. MiPA, INEA (1997). L'agricoltura italiana conta. Roma.

# I MACROMICETI DEL GENERE *BOLETUS* COME INDICATORI AMBIENTALI DELLA DISTRIBUZIONE E DELL'EVOLUZIONE DELL'INQUINAMENTO RADIOATTIVO E CONVENZIONALE

Nonnis Marzano F.<sup>1,4</sup>, Bracchi P.G.<sup>2</sup>, Meloni S.<sup>3</sup>, Triulzi C.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Borsista PostDottorato - Facoltà di Medicina Veterinaria - Università degli Studi di Parma

<sup>2</sup>Istituto di Scienza e Tecnologia degli Alimenti - Facoltà di Medicina Veterinaria - Università degli Studi di Parma

<sup>3</sup>Dipartimento di Chimica Generale - Facoltà di Scienze MM FF NN - Università degli Studi di Pavia

<sup>4</sup>Dipartimento di Biologia Evolutiva e Funzionale - Facoltà di Scienze MM FF NN - Università degli Studi di Parma

## Introduzione

Negli ultimi anni la ricerca biologica in campo ambientale si è rivolta sempre più all'utilizzo di diverse specie animali e vegetali come bioindicatori di contaminazione recente o pregressa dell'ecosistema (Seaward, 1995). Alcuni organismi si sono dimostrati particolarmente utili soprattutto nell'identificazione di bassi livelli di inquinamento, difficilmente evidenziabili con la semplice analisi strumentale di matrici abiotiche, quali acqua o terreno (Fraiture et al., 1990).

Nonostante la letteratura su questo argomento sia vasta, ancora controverse sono alcune questioni riguardanti un corretto utilizzo delle diverse specie e soprattutto l'affidabilità degli organismi prescelti per quanto concerne i reali livelli di contaminazione. Si è abusato spesso in passato del termine bioindicatori, utilizzando a volte gli organismi come veri e propri biomonitori d'inquinamento, senza considerarne l'alta variabilità intra ed interspecifica e soprattutto come essi spesso non siano, per proprie caratteristiche morfologiche e funzionali, rappresentativi del reale stato di benessere dell'ecosistema (Seaward, 1995).

E' noto dalla letteratura come alcune specie fungine siano in grado di accumulare elevati livelli di contaminanti radioattivi e convenzionali, nonostante i bassi livelli presenti nel terreno circostante e come essi siano in grado di trattenere per lunghi periodi nel micelio superficiale e conseguentemente nel carpoforo elevate concentrazioni di inquinanti (Giovani et al., 1990). Gli alti coefficienti di trasferimento terreno/fungo e la vasta estensione superficiale del micelio contribuiscono a rendere i macromiceti ottimi bioindicatori di radiocontaminazione (Fraiture et al., 1990; Giovani et al., 1990).

Partendo da queste conoscenze, in questo lavoro sono presentati i risultati relativi alla determinazione dei livelli di due radionuclidi artificiali e di alcuni elementi chimici, anche presenti in tracce, in macromiceti del genere *Boletus* di diversa provenienza geografica.

In particolare, per quanto riguarda le indagini radioecologiche, avendo in chiara considerazione come la contaminazione apportata dall'incidente di Chernobyl sia stata alquanto disomogenea e come la piovosità, nonché le caratteristiche del territorio influenzino i diversi livelli di contaminanti presenti, si è cercato di valutare l'impatto dell'incidente sui diversi ecosistemi e l'evoluzione della contaminazione. I risultati, interessanti soprattutto per quanto attiene al *Boletus* della Valtaro, hanno suggerito un eventuale utilizzo di queste ricerche per l'identificazione della reale provenienza dei campioni. I funghi della Valtaro crescono infatti in un ambiente considerato di una certa importanza dal punto di vista micologico, sia per aspetti turistici che commerciali e spesso sono stati propagandati come funghi di Borgotaro miceti provenienti da altre aree geografiche.

I nostri risultati sembrerebbero confermare l'alta variabilità della distribuzione di Cs-134 e Cs-137 in aree tra loro vicine, consentendo però di definire intervalli di valori caratteristici per le diverse zone di campionamento.

La ricerca presenta inoltre alcuni aspetti innovativi soprattutto per quanto concerne le metodologie analitiche. Infatti la caratterizzazione di alcuni elementi stabili (anche presenti in tracce) è stata eseguita mediante analisi per attivazione neutronica. Tale tecnica applicata in Italia solo presso il reattore sperimentale dell'Università di Pavia consente di evidenziare elementi presenti in minime concentrazioni e non determinabili con le tecniche classiche.

## Materiali e metodi

Nel corso del 1996 sono stati prelevati campioni del genere *Boletus* in alcune località dei Comuni di Borgo Val di Taro (Vighini) e di Albareto, rinomate per la raccolta e la commercializzazione del fungo porcino (Baratti et al., 1996). Altri organismi dello stesso genere sono stati acquistati da cercatori, da commercianti locali e da alcuni importatori da regioni europee ed extra europee. Nella Tabella 1 è riportato un quadro esplicativo dei diversi campioni analizzati.

In alcuni campioni è stato possibile definire con certezza la specie *Boletus edulis*, mentre, soprattutto per quanto concerne i campioni acquistati, i boleti erano costituiti dalla quattro specie principali del genere, ossia *B. edulis*, *reticulatus*, *aereus* e *pinophilus*. In corrispondenza dei campioni prelevati a Vighini e Case Mirani sono stati raccolti anche campioni di terreno superficiale.

I funghi ripuliti dai residui di terriccio ed i terreni corrispondenti, successivamente all'essiccazione a 105°C sino a peso costante, sono stati macinati e omogeneizzati in un mortaio di agata. Si è proceduto quindi alle analisi di radioattività artificiale ed elementi stabili.

I principali radionuclidi artificiali ricaduti sull'area di studio con il fallout dell'incidente di Chernobyl sono stati il Cs-137 (prodotto di fissione, emivita 30,2 anni) ed il Cs-134 (prodotto di attivazione, emivita 2,06 anni) (Denegri et al., 1987). Entrambi sono stati determinati mediante analisi di spettrometria gamma con rivelatore EG&G-Ortec al Germanio intrinseco ad alta risoluzione (FWHM 1,8 KeV a 1,33 MeV). La validità della strumentazione e dei parametri di calibrazione è stata valutata sperimentalmente mediante un esercizio di intercalibrazione effettuato con l'*International Atomic Energy Agency* del Principato di Monaco.

Il campo di energia considerato è stato tra 0,08 e 1,5 MeV, e nell'ambito di tale range sono stati determinati oltre ai due isotopi del cesio, anche il K-40 al fine di poter calcolare i rapporti cesio/potassio (Brunner et al., 1996) ed estendere in futuro le ricerche anche ad aspetti eco-fisiologici. Le concentrazioni, riferite alla data del prelievo, sono espresse in Bq/kg secco e sono state calcolate con apposito programma informatizzato della EG&G-Ortec (Milano).

SPECIE	Località di prelievo o provenienza	Data	Peso secco (grammi)	Caratteristiche del campione
Boletus edulis	Borgotaro	Sett. 1996	19,56	Loc. Vighini* 800 m slm
Boletus edulis	Albareto	Ott. 1996	4,49	Loc. Case Mirani*
Boletus edulis	Borgotaro	Ott. 1996	76,06	Forniti da commerciante
Boletus sp.	Tarsogno	ND	78,21	Forniti da un raccoglitore
Boletus aestivalis	Rovinaglia	Giu. 1997	37,01	Forniti da un raccoglitore
Boletus sp.	Mercato di Parma	Lug. 1996	100	B. edulis, reticulatus, aereus, pinophilus
Boletus sp.	Mercato di Parma	Lug. 1996	100	
Boletus sp.	Cavalese (Tn)	Lug. 1996	44,72	
Boletus edulis	Calabria	ND	11,19	
Boletus sp.	Skopje (Jugoslavia)	ND	33,12	
Boletus sp.	Romania	ND	10,07	B. edulis, reticulatus, aereus, pinophilus
Boletus sp.	Cina	ND	32,28	

\* Anche campione di terreno superficiale

ND: Non Determinato

Tabella 1 - Quadro dei campioni analizzati

L'analisi per attivazione neutronica (NAA: Neutron Activation Analysis) è stata condotta su aliquote dei campioni del peso di 0,300 g, inserite in contenitori di polietilene per essere sottoposti ad irraggiamento.

Come materiale di riferimento sono stati utilizzati materiali certificati geologici e biologici forniti dal N.I.S.T. (National Institute Sciences and Technology, U.S.A.).

Gli irraggiamenti sono stati effettuati nel reattore nucleare Triga Mark II dell'Università di Pavia, ad un flusso di neutroni termici di  $1 \times 10^{12}$  n/cm<sup>2</sup>/sec, per la durata di 20 ore. Dopo decadimento di tre giorni sono stati sottoposti a spettrometria gamma con un rivelatore Ge iperpuro collegato a un analizzatore ed a un personal computer per l'elaborazione automatica degli spettri. Gli elementi chimici di maggior interesse sono risultati Ca, Sc, Cr, Fe, Co, Ni, Zn, As, Se, Rb, Zr, Sb, Cs, Ba, La, Ce, Nd, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Lu, Hf, Ta, Th e U. Le concentrazioni sono espresse in ppm (mg/kg peso secco).

## Risultati e discussione

L'analisi dei dati di radioattività artificiale ha evidenziato come i boleti della Valtaro presentino ancora elevate concentrazioni di radiocesio, nonostante siano ormai trascorsi più di dieci anni dall'incidente di Chernobyl (Denegri et al., 1987). Le concentrazioni di Cs-137 in questi macromiceti simbiotici sono risultate superiori ai campioni provenienti da altre aree europee ed extra europee ed in particolare è evidente anche una certa variabilità dei dati rispetto ad altri campioni italiani.

Per quanto riguarda l'alta variabilità dei risultati in campioni di zone limitrofe, quali Tarsogno (Comune di Tornolo) e Rovinaglia (Comune di Borgotaro), desideriamo non sbilanciarci e non formulare alcuna ipotesi. Nella Tabella 2 è infatti possibile osservare come i valori passino da circa 500 - 600 Bq/kg peso secco nei campioni di Vighini e Case Mirani, mentre siano decisamente inferiori nel campionamento di Tarsogno e Rovinaglia (63-158 Bq/kg s.). A tale proposito è bene precisare che a causa della scarsa nascita fungina degli anni 1996 e 1997 spesso ci siamo rivolti a commercianti locali per il reperimento dei campioni. Le basse concentrazioni presenti nei campioni denominati Rovinaglia, Tarsogno e Borgotaro, per quanto riferibili a differenze nel fallout ed alla variabilità interspecifica che influenza fortemente il bioaccumulo, ci hanno fatto sorgere qualche dubbio circa la provenienza dei tre campioni e sono state lo stimolo a più accurate indagini circa la reale provenienza dei boleti. Analizzando quindi campioni di derivazione certa e commercializzati nella nostra provincia è emerso come le concentrazioni di Cs-137 in boleti del Trentino, della Calabria, dell'Europa dell'Est e della Cina fossero inferiori ai porcini della Valtaro.

D'altro canto la presenza di Cs-134 rilevata nei due campioni di Vighini e Case Mirani ci permette di identificare con certezza la contaminazione derivata dall'incidente di Chernobyl. Questo isotopo del cesio infatti non era presente nell'ambiente prima dell'evento Chernobyl ed identifica con certezza la contaminazione apportata dall'incidente. Come già evidenziato per il Cs-137 anche le concentrazioni di Cs-134 sono risultate superiori nei campioni di Borgotaro rispetto alle altre zone.

L'incidente di Chernobyl (26 aprile 1986) ha immesso Cs-137 e Cs-134 in proporzioni definite, con rapporto 1,7 - 2,0 normalizzato al 1° maggio 1986 (Ruhm et al., 1997). Pertanto attraverso un calcolo matematico che considera i diversi tempi di decadimento dei due radionuclidi è possibile valutare, seppur con una certa imprecisione a causa del lungo periodo ormai trascorso, il contributo del cesio dovuto a Chernobyl rispetto a quello precedentemente già esistente e relativo ai test nucleari degli anni '60-'70. Alla data dei nostri campioni il rapporto teorico è risultato variabile tra 50 e 58. I valori superiori a tale rapporto sono dovuti ad un maggior contributo del Cs-137 preChernobyl. Considerando un rapporto teorico medio Cs-137/Cs-134 di 54, in Tabella 3 è stata ipotizzata una ripartizione del cesio preChernobyl e Chernobyl presente in alcuni campioni.

SPECIE	Località di prelievo o provenienza	Data	Cs-137 Bq/kg ps	Cs-134 Bq/kg ps	Rapporto Cs-137/134	K-40 Bq/kg ps
Boletus edulis	Vighini (Pr)	Sett. 1996	603,23±7,94	10,44±2,10	57,78	756,30±71,47
Terreno	"	"	725,07±5,33	11,52±0,94	62,94	595,92±30,39
Boletus edulis	Albareto (Pr)	Ott. 1996	490,65±8,10	11,35±3,70	42,23	1062,8±117,6
Terreno	"	"	732,29±5,12	10,11±2,35	72,43	636,79±31,48
Boletus edulis	Borgotaro (Pr)	Ott. 1996	67,82±0,71	1,08±0,23	62,79	325,78±08,22
Boletus sp.	Tarsogno (Pr)	ND	158,07±1,63	<1,64	-	591,70±18,52
Boletus aestiv.	Rovinaglia (Pr)	Giu. 1997	63,39±0,68	<1,63	-	944,91±20,34
Boletus sp.	Mercato di Parma	Lug. 1996	10,33±0,51	ND	-	412,19±12,64
Boletus sp.	Mercato di Parma	Lug. 1996	21,13±0,48	<0,62	-	411,01±09,55
Boletus sp.	Cavalese (Tn)	Lug. 1996	288,16±2,61	4,40±0,78	65,49	530,60±18,14
Boletus edulis	Calabria	ND	285,01±6,56	<5,40	-	1030,9±116,4
Boletus sp.	Skopje (Jugoslavia)	ND	44,42±2,12	<3,95	-	853,90±42,64
Boletus sp.	Romania	ND	186,54±2,87	<4,63	-	961,25±52,92
Boletus sp.	Cina	ND	2,11±1,15	<1,78	-	772,16±33,90

ND: Non Determinato

Tabella 2 - Concentrazioni di Cs-137, Cs-134 e K-40 determinate in campioni del genere *Boletus*

SPECIE	Località prelievo o provenienza	Data	PRE-Chernobyl Bq/kg ps	POST-Chernobyl Bq/kg ps
Boletus edulis	Vighini	Sett. 1996	39,47	563,76
Terreno	"	"	102,99	622,08
Boletus sp.	Cavalese (Tn)	Lug. 1996	50,56	237,6

Tabella 3 - Separazione del Cs-137 pre-Chernobyl e Chernobyl in alcuni campioni

I risultati della Tabella 3 rivestono notevole importanza in relazione alle diverse caratteristiche dei due tipi di fallout (Aarkrog, 1988). Ricaduta altamente disomogenea e variabile, anche in aree vicine, quella di Chernobyl; più omogenea quella da esperimenti nucleari. A tal proposito, è interessante osservare come da questo calcolo emerga il forte contributo del Cs-137 Chernobyl rispetto a quello già presente nell'ambiente e soprattutto come le concentrazioni pre-Chernobyl del campione Borgotaro Sett. '96 e Cavalese siano alquanto simili ad ulteriore riprova di quanto appena affermato circa la ricaduta omogenea del Cs-137 precedente all'incidente. Lo scarso apporto di cesio Chernobyl nel campione Borgotaro ott. '96 con basso valore di Cs-134 farebbe propendere per esemplari non provenienti dalla Valtaro (ricordiamo che tale campione fu fornito da un commerciante locale).

L'assenza di Cs-134 in alcuni campioni può essere dovuta o al suo naturale decadimento e quindi scomparsa dall'ambiente, se inizialmente presente in basse concentrazioni (può essere questo il caso della Calabria e Skopje, l'Europa meridionale è stata scarsamente interessata da Chernobyl) (Enea, 1986); oppure può non essere mai arrivato in regioni così orientali come la Cina.

Da un confronto tra le concentrazioni di radiocesio presenti nei nostri campioni con alcuni dati riportati in letteratura per l'area europea (Tabella 4) emergono alcune considerazioni interessanti a riprova di quanto appena affermato.

LOCALITA'	Anno del prelievo	Cs-137 Bq/kg ps	Cs-134 Bq/kg ps	Riferimento Bibliografico
VIGHINI (PR)	1996	603,23	10,44	Questo lavoro
ALBARETO (PR)	1996	490,65	11,35	Questo lavoro
SVEZIA	1986	10500	ND	Mascanzoni, 1992
SVEZIA	1991	17000-77000	"	Guillitte et al., 1994
NORVEGIA	1990	3500*	"	Amundsen et al., 1996
NORVEGIA	1991	5500*	"	Amundsen et al., 1996
GERMANIA	1987-1990	1150-3950	"	Kammerer et al., 1994
POLONIA	1990	300-2000	50-200	Mietelski et al., 1994
CECOSLOVACCHIA	1986	840	247	Randa et al., 1990
CECOSLOVACCHIA	1987-1988	70-190	<LR	Randa et al., 1990

\* Somma di Cs-137 + Cs-134

ND: Non Determinato

<LR: Inferiore al limite di rilevazione

Tabella 4 - Confronto tra le concentrazioni di Cs-137 e Cs-134 determinate nei campioni di Vighini e Albareto ed alcuni valori riportati in letteratura per *Boletus edulis*

Nel confronto in tabella le concentrazioni dei due isotopi del cesio risultano alquanto variabili, riflettendo in linea di massima, per l'areale europeo, il ben accertato gradiente nord-sud ed oriente-occidente (Enea, 1986). Anche da questo confronto emerge come la determinazione di precisi range di valori e soprattutto la definizione dei livelli di contaminazione da Cs-134 possano essere un utile strumento per l'identificazione, seppur con alcuni limiti, dell'esatta provenienza dei campioni.

Elemento	Boleti Vighini	Terreno Vighini	Boleti Albareto	Terreno Albareto	Boleti Cavalese	Boleti Calabria	Boleti Cina
Na	2767±39,6	123087±49,0	4224±83,7	131823±357	6647±18,8	2109±6,39	1108±3,09
K	1951±6,61	11150±7,00	1955±35,7	9555,83±84,0	2219±1,09	1722±1,03	1531±3,05
Se	0,043±0,001	6,83±0,19	0,087±0,01	5,092±0,02	0,006±0,003	0,03±0,002	0,1324_±0,01
Ca	305,59±3,37	10005±1,70	367,73±1,27	11611±46,9	400,99±1,05	275,26±44,9	495,67±3,28
Cr	9,44±1,08	24,45±0,57	1,02±0,05	389,80±0,53	<LR	0,42±0,01	22,53±0,16
Fe	195,85±1,17	18031±661	256,21±3,72	14199±1,41	12625±57	171,88±2,16	707,24±3,09
Ni	<LR	<LR	<LR	22,68±0,26	<LR	<LR	<LR
Co	0,26±0,006	6,71±0,05	0,31±0,01	11,25±0,02	0,15±0,01	0,65±0,02	6,49±0,04
Zn	143,37±1,23	61,49±0,19	138,98±3,28	64,80±0,79	49,99±0,36	76,41±2,44	74,58±0,24
As	0,31±0,01	7,68±0,23	0,35±0,002	4,85±0,04	0,13±0,001	0,39±0,01	5,89±0,09
Se	21,60±0,57	1,65±0,10	4,50±0,18	9,28±0,07	2,55±0,19	10,62±1,49	1,70±0,02
Br	4,37±0,19	8,36±0,02	6,45±0,40	6,60±0,13	2,46±0,91	9,38±0,25	10,31±0,05
Rb	372,81±2,32	112,6±0,31	95,55±4,40	98,18±0,03	256,45±3,82	251,52±2,50	118,78±0,21
Sr	5,60±0,21	70,35±0,15	183,85±0,28	1516±20,0	136,14±0,37	192,65±0,69	42,93±0,12
Zr	<LR	175,9±1,23	<LR	135,31±0,65	<LR	<LR	168,05±0,20
Ag	5,49±0,20	2,82±0,02	0,56±0,02	2,23±0,03	0,99±0,01	9,68±0,33	2,34±0,08
Sb	0,66±0,03	0,96±0,01	1,59±0,02	49,98±0,49	1,74±0,02	4,60±0,01	1,13±0,01
Cs	2,01±0,05	5,31±0,04	0,60±0,01	3,64±0,07	4,76±0,14	1,55±0,04	0,49±0,01
Ba	7,86±0,03	695,01±0,43	4482±18	712,59±0,55	<LR	<LR	985,72±1,79
La	0,35±0,02	21,75±0,56	0,49±0,001	13,47±0,02	0,21±0,005	0,18±0,002	0,94±0,01
Ce	0,90±0,003	36,77±0,05	0,80±0,003	23,80±0,09	0,43±0,01	0,47±0,011	1,88±0,003
Nd	0,65±0,001	20,54±0,002	0,76±0,009	22,54±0,02	0,39±0,77	0,19±0,002	1,64±0,003
Sm	0,19±0,002	5,87±0,034	0,22±0,003	6,23±0,001	0,11±0,002	0,05±0,001	0,44±0,007
Eu	0,019±0,002	0,48±0,002	0,04±0,003	0,351±0,003	0,005±0,002	0,007±0,01	0,09±0,003
Gd	0,24±0,001	7,40±0,041	0,39±0,001	8,55±0,003	0,15±0,001	0,065±0,001	0,58±0,001

La	0,35±0,02	21,75±0,56	0,49±0,001	13,47±0,02	0,21±0,005	0,18±0,002	0,94±0,01
Ce	0,90±0,003	36,77±0,05	0,80±0,003	23,80±0,09	0,43±0,01	0,47±0,011	1,88±0,003
Nd	0,65±0,001	20,54±0,002	0,76±0,009	22,54±0,02	0,39±0,77	0,19±0,002	1,64±0,003
Sm	0,19±0,002	5,87±0,034	0,22±0,003	6,23±0,001	0,11±0,002	0,05±0,001	0,44±0,007
Eu	0,019±0,002	0,48±0,002	0,04±0,003	0,351±0,003	0,005±0,002	0,007±0,01	0,09±0,003
Gd	0,24±0,001	7,40±0,041	0,39±0,001	8,55±0,003	0,15±0,001	0,065±0,001	0,58±0,001
Tb	0,04±0,002	1,29±0,003	0,01±0,001	1,56±0,003	0,03±0,001	0,011±0,001	0,10±0,007
Ho	0,06±0,002	1,84±0,006	0,10±0,003	2,24±0,001	0,04±0,004	0,016±0,001	0,15±0,003
Tm	0,03±0,001	0,75±0,006	0,04±0,005	0,93±0,006	0,015±0,002	0,007±0,001	0,06±0,005
Yb	0,17±0,006	4,94±0,060	0,28±0,070	5,86±0,008	0,10±0,015	0,043±0,002	0,36±0,003
Lu	0,03±0,002	0,72±0,006	0,04±0,001	0,94±0,006	0,016±0,001	0,007±0,001	0,06±0,002
Hf	<LR	5,84±0,015	0,11±0,002	5,15±0,033	<LR	<LR	6,70±0,055
Ta	<LR	1,00±0,024	<LR	0,82±0,006	<LR	<LR	0,99±0,012
Au	0, ±0,002	0,04±0,002	0,08±0,001	0,11±0,002	0,017±0,002	0,044±0,001	0,07±0,003
Th	0,17±0,003	8,28±0,005	0,23±0,007	6,93±0,055	0,095±0,003	0,142±0,002	8,39±0,071
U	<LR	2,73±0,51	<LR	1,94±0,030	<LR	<LR	1,86±0,030

<LR: Inferiore al limite di rilevazione

Nei riquadri evidenziati in grigio sono riportate le concentrazioni più interessanti

Tabella 5 - Concentrazioni (ppm) di elementi stabili determinate mediante analisi per attivazione neutronica in alcuni campioni di boleti e terreni

In futuro l'estensione della ricerca anche alla determinazione delle concentrazioni di Sr-90 e degli isotopi del plutonio consentirà di definire con maggiore precisione l'attendibilità di quanto appena affermato. Infatti seppur presenti in concentrazioni minime, in quanto scarsamente influenzati dall'evento Chernobyl, tali isotopi possono essere ben identificati nel genere *Boletus* e nei macromiceti in generale, in relazione agli alti fattori di trasferimento suolo/micelio/carpoforo (Fraiture et al., 1990; Giovani et al., 1990).

Parallelamente alle indagini radiometriche, l'analisi per attivazione neutronica ha evidenziato aspetti interessanti per quanto riguarda i livelli di alcuni elementi stabili, in particolare metalli pesanti e terre rare (serie dei lantanidi), presenti nei campioni. Limitando infatti il confronto ai soli boleti italiani emergono alcune interessanti indicazioni.

Dall'analisi delle concentrazioni, riportate in Tabella 5 ed espresse in ppm (mg/kg peso secco) si apprezzano, nei funghi di Vighini (Borgotaro) e Case Mirani (Albareto), alti valori di alcuni metalli pesanti quali Cr e Zn, e dell'alcaino-terroso Ba, rispetto ai boleti del Trentino e della Calabria. In particolare il Ba, presente in rilevante concentrazione nei boleti parmensi, è assente negli altri campioni italiani presi in considerazione. I funghi di Cavalese hanno altresì evidenziato alti livelli di ferro, elemento scarso nei campioni di Borgotaro e della Calabria. Ma soprattutto molto interessante è apparsa la costante maggior presenza di terre rare (serie dei lantanidi) nei funghi della Valtaro rispetto a Trentino e Calabria.

Tutto ciò risulta ancor più interessante se si considera che i funghi del trentino appartengono approssimativamente alla stessa fascia latitudinaria della Valtaro, con concentrazioni di Cs-134 (che abbiamo considerato come marker Chernobyl) alquanto vicine a quelle del nostro appennino.

## Considerazioni conclusive

Questo studio, nonostante il limitato numero di campioni analizzato, ha fatto emergere alcuni risultati interessanti, offrendo notevoli spunti di discussione e stimolando l'ampliamento della ricerca ad altri radionuclidi a vita lunga, nonché a campioni di altre aree. Il nostro approccio metodologico appare alquanto interessante, mostrando notevoli potenzialità, che dovranno tuttavia essere sviluppate seguendo precise linee di condotta (Jorhem e Schroder, 1995). In particolare sarà necessario inquadrare con certezza dal punto di vista sistematico le singole specie, al fine di limitare la variabilità interspecifica che fortemente influenza il bioaccumulo di radioisotopi e metalli in tracce (Jorhem e Sundstrom, 1995). Limitare la contaminazione della componente edule da parte del terreno e condurre parallelamente alle analisi dei funghi anche indagini sul terreno sottostante/circostante.

Tutto ciò al fine di poter definire con assoluta certezza come le indagini sulla radioattività ambientale e sugli elementi stabili rappresentino una valida tecnica per identificare specie fungine di provenienza certa, nonché svelare la presenza in commercio di campioni provenienti dall'estero. Tale ricerca apre quindi nuove prospettive alla divulgazione turistica e commerciale del genere *Boletus*, anche alla luce dell'assegnazione al territorio ed al fungo della Valtaro della denominazione IGP (Indicazione Geografica Protetta) da parte della Comunità Europea.

Parole chiave: radionuclidi, elementi in tracce, funghi, *Boletus*

Key words: radionuclides, trace elements, mushrooms, *Boletus*

RIASSUNTO. L'utilizzo di macromiceti del genere *Boletus* come bioindicatori di inquinamento radioattivo e convenzionale ha permesso di valutare i livelli di contaminazione di differenti ecosistemi. I risultati hanno suggerito la definizione di range di concentrazioni caratteristici dei diversi ambienti ed utilizzabili per la certificazione della reale provenienza dei boleti. In particolare le analisi radiometriche, effettuate parallelamente alla determinazione dei livelli di metalli pesanti ed elementi in tracce determinati mediante analisi per attivazione neutronica, ben si prestano al controllo della commercializzazione del porcino della Valtaro. Tutto ciò anche in considerazione dell'assegnazione al territorio ed al fungo della Valtaro della denominazione IGP (Indicazione Geografica Protetta) da parte della Comunità Europea.

SUMMARY. A radioactive and conventional pollution assessment was carried out by using macromycetes of the genus *Boletus* as bioindicators of environmental contamination. The results suggested the definition of concentration ranges for each ecosystem with the aim of certifying the real origin of the mushrooms. Particularly, radiometrical analyses coupled to neutron activation analysis for the determination of trace elements can be used for controlling the correct trading of the Valtaro *Boletus*. Such control will be much requested in the future in relation to the IGP (Protected Geographical

Indication) brand assigned by the European Community to the Taro Valley.

## BIBLIOGRAFIA

1. AARKROG A. (1988) The radiological impact of the Chernobyl debris compared with that from nuclear weapons fallout. *Journal of Environmental Radioactivity* 6: 151-162.
2. AMUNDSEN I., GULDEN G., STRAND P. (1996) Accumulation of long term behaviour of radiocesium in Norwegian fungi. *The Science of the Total Environment* 184: 163-171.
3. BARATTI C., BORGHI E., SCHNEIDER M. (1996) I funghi della Val Taro, I censimento. Pubblicazione del Centro Studi per la Flora Mediterranea. Borgo Val di Taro (Pr): 183-210.
4. BRUNNER I., BEAT F., RIESEN T.K. (1996) Influence of ectomycorrhization and cesium/potassium ratio on uptake and localization of cesium in Norway spruce seedlings. *Tree Physiology* 16: 705-711.
5. DENEGRI P., TASSI PELATI L., BOCCHI A., BRACCHI P.G. (1987) La concentrazione di radiocesium in funghi e piante erbacee della provincia di Parma dopo Chernobyl. *Atti IV Convegno Internazionale di Micologia*. Borgo Val di taro (Pr): 83-88.
6. ENEA (1986) L'incidente di Chernobyl. *Notiziario Enea, Energia e Innovazione* 32 (5-6): 34-63.
7. FRAITURE A., GUILLITTE O., LAMBINON. (1990) Interest of fungi as bioindicators of the radiocontamination in forest ecosystems. In *Transfer of radionuclides in natural and semi-natural environments*. Desmet, Nassimbeni, Belli Eds., Elsevier Applied Science. London: 477-484.
8. GIOVANI C., NIMIS P.L., PADOVANI R. (1990) Investigation of the performance of macromycetes as bioindicators of radioactive contamination. In *Transfer of radionuclides in natural and semi-natural environments*. Desmet, Nassimbeni, Belli Eds., Elsevier Applied Science. London: 485-491.
9. GUILLITTE O., MELIN J., WALLBERG L. (1994) Biological pathways of radionuclides originating from the Chernobyl fallout in a boreal forest ecosystem. *The Science of the Total Environment* 157: 207-215.
10. JORHEM L., SCHRODER T. (1995) Characterization of a fungus reference material and a guide for use. *Z Lebensm Unters Forsch* 201: 317-321.
11. JORHEM L., SUNDSTROM B. (1995) Levels of some trace elements in edible fungi. *Z Lebensm Unters Forsch* 201: 311-316.
12. KAMMERER L., HIERSCHE L., WIRTH E. (1994). Uptake of radiocesium by different species of mushrooms. *Journal of Environmental Radioactivity* 23: 135-150.
13. MASCANZONI D. (1992) Determination of Sr-90 and Cs-137 in mushrooms following the Chernobyl fallout. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 161 (2): 483-488.
14. MIETELSKI J.W., JASINSKA M., KUBICA B., KOZAK K., MACHARSKI P. (1994) Radioactive contamination of Polish mushrooms. *The Science of the Total Environment* 157: 217-226.
15. RANDA Z., BENADA J., HORYNA J., KLAN J. (1990) Mushrooms - Significant source of internal contamination by radiocesium. In *Transfer of radionuclides in natural and semi-natural environments*. Desmet, Nassimbeni, Belli Eds., Elsevier Applied Science. London: 169-178.
16. RUHM W., KAMMERER L., HIERSCHE L., WIRTH E. (1997) The Cs-137/Cs-134 ratio in fungi as indicator of the major mycelium location in forest soil. *Journal of Environmental Radioactivity* 35: 129-148.
17. SEAWARD M.R.D. (1995) Use and abuse of heavy metal bioassays in environmental monitoring. *The Science of the Total Environment* 176: 129-134.

# POSSIBILITA' DI CONTAMINAZIONE DA *CL. BOTULINUM* IN ALIMENTI SECONDARI: IL CASO DEL MIELE

E. Maggi

*Istituto di Ispezione degli Alimenti di Origine  
Animale - Facoltà di Medicina Veterinaria -  
Università degli Studi di Parma*

[Relazione presentata al workshop 'Il *Clostridium botulinum* nella catena alimentare' tenutosi a Cernobbio (Como) il 31/1/1997]

## Introduzione

L' intossicazione botulinica, come entità nosologica, è ormai sufficientemente nota non solo alla comunità scientifica, ma ad ogni livello socio-culturale a causa del forte interesse da parte dei mass-media dovuto principalmente ai suoi drammatici aspetti. Sono conosciuti il quadro clinico, le fonti di intossicazione, gli alimenti direttamente coinvolti e le contromisure da adottare per ridurre al minimo il rischio di insorgenza. I rilievi epidemiologici permettono di rilevare che in un consumatore sano l' introduzione del batterio, sia nella sua forma vegetativa, sia sotto forma di spora, non rappresenta di norma un problema clinico. Non dobbiamo però dimenticare che, a fianco delle categorie di utenza tradizionali, vanno oggi proponendosi, in misura sempre maggiore, nuove classi di consumatori bisognosi di particolari attenzioni e tutela; ci riferiamo in special modo a soggetti che attraversano stati di immunodepressione più o meno transitoria, o che abbisognano di terapie immunosoppressive per trapianti subiti, o comunque portatori di patologie in grado di determinare mutamenti nella normale flora microbica intestinale. In questi soggetti, il rischio di patologia spesso non è immediatamente quantificabile con sicurezza, né è possibile escluderlo a priori, dato il riscontro di quadri clinici sovrapponibili, come patogenesi, al botulismo

infantile (Sonnabend et al., 1987).

In tali casi, la patologia non può essere definita una vera e propria intossicazione, ma rientra nel campo delle tossinfezioni, essendo determinata dall'ingestione delle spore, dalla loro germinazione e dalla successiva produzione di tossine. E' il caso che riguarda direttamente la categoria di consumatori più protetta in assoluto, ossia quella della prima infanzia, il cui coinvolgimento in episodi tossinfettivi è peraltro ampiamente documentato sin dalla metà degli anni '70.

## Il botulismo infantile

Il botulismo infantile è una particolare forma di botulismo causata non già dall' assorbimento di tossina preformata, quanto dall' ingestione di spore, le cui fonti sono state individuate nei terreni, nella polvere delle abitazioni ed in alcuni alimenti che rientrano nell' alimentazione del lattante. Tra questi ultimi un ruolo particolarmente insidioso è stato prospettato per il miele (CDC,1978). Le spore in esso contenute, a differenza di quanto accade nell'adulto o in bambini al di sopra dell'anno di età, sarebbero in grado di germinare, a livello del colon, con conseguente produzione di tossina, la quale provoca manifestazioni essenzialmente riconducibili all'intossicazione classica. Il fenomeno sarebbe pertanto legato alla particolare composizione della flora microbica intestinale dei soggetti molto giovani.

La costipazione appare essere il sintomo più comune e può precedere di diversi giorni, quando non addirittura di settimane, il manifestarsi degli altri segni clinici. La paralisi discendente è l'evento immediatamente successivo e coinvolge dapprima la testa, per interessare in seguito il tronco e gli arti (Floppy baby); caratteristici, inoltre, sono la perdita di controllo del capo, la suzione ed il pianto che si presentano indeboliti. Frequentemente si notano: ptosi, diminuiti movimenti oculari, perdita del riflesso del vomito e scialorrea. Gli ultimi sintomi a manifestarsi sono la riduzione della capacità motoria e la perdita dei riflessi tendinei; i danni a carico del sistema nervoso autonomo

possono determinare secchezza delle mucose, ritenzione urinaria, disturbi della peristalsi ed aritmie cardiache. Molti dei lattanti colpiti devono essere intubati e necessitano di prolungata ventilazione; frequenti complicazioni sono rappresentate da polmoniti secondarie e da stenosi subglottidea.

La formulazione di una diagnosi differenziale si presenta complicata, data la sostanziale identità del quadro clinico con patologie diverse, quali la meningite, la sepsi, la poliomielite od i problemi cerebrovascolari, nonostante l'assenza di febbre e la costipazione, come evento precoce, possano costituire elementi utili.

## I casi clinici

La documentazione più rilevante ha come fonte gli studi condotti negli Stati Uniti d'America, dove la casistica riferisce un totale di circa 1.000 pazienti ospedalizzati negli ultimi 15 anni; altri episodi sono stati peraltro segnalati in Canada, Argentina, Australia, Giappone, nonché in Europa: Inghilterra, ex-Cecoslovacchia, Svezia, Danimarca e Svizzera.

Nel nostro paese il botulismo infantile è stato segnalato per la prima volta nel 1986 da Aureli et al. (1986 a), con un episodio che ha visto coinvolta una bambina di 8 mesi, con esito fatale; un altro caso, associato all'ingestione di miele si riferisce ad un episodio risalente al 1991 (Fenicia et al., 1993).

E' opportuno sottolineare che, nei confronti dei casi di botulismo infantile rilevati a livello mondiale, con ogni probabilità si tratta di un calcolo per difetto, stante il carattere atipico della patologia e le conseguenti difficoltà diagnostiche.

Negli USA è significativo il dato che vede la stragrande maggioranza dei casi concentrati in soli tre Stati (Utah, Minnesota e California), nei quali è stata dimostrata una elevata presenza di spore di *Cl. botulinum* a livello dei terreni. La tossinfezione ha colpito per oltre il 95% lattanti entro il quarto mese di vita, percentuale che si eleva al 98% se si rapporta la patologia a soggetti entro il sesto mese. Non sembra esistano maggiori incidenze

connesse a fattori di razza o di sesso, mentre controverso è il ruolo svolto dall'allattamento come possibile fattore condizionante. Alcuni autori (Arnon et al., 1981) hanno evidenziato come l'allattamento al seno nel periodo antecedente le manifestazioni morbose sia spesso associato alle forme di botulismo più lievi; di contro l' allattamento artificiale, con aggiunta in alcuni casi di sali ferrosi, sarebbe associato alle forme acute, fulminanti della malattia. Anche se non ancora dimostrato, non è da escludere che il latte materno abbia un'azione protettiva ascrivibile alle sue componenti immunologiche (leucociti, lattoferrina, lisozima, complemento ed immunoglobuline secretorie A) e alla possibile presenza di anticorpi specifici anti-clostridio. Si ricorda la differente composizione della flora microbica intestinale in neonati allattati al seno, differenza che può influenzare la germinazione e la moltiplicazione delle spore ingerite (David, 1996). Studi in vitro (Aureli e Accorti, 1981) avevano dimostrato l' azione inibente di alcune specie di Enterobacteriaceae e Clostridi nei confronti della crescita di *Cl. botulinum*. Studi effettuati per individuare il tipo di tossina coinvolta nel botulismo infantile hanno permesso di evidenziare come, nella stragrande maggioranza, le manifestazioni siano da attribuire a neurotossine di tipo A o B (in un caso è stata riscontrata la presenza contemporanea); solo in una percentuale minima (7 casi su 1.270 pazienti ospedalizzati) sono risultate coinvolte altre tossine (tipo E ed F ). Significativi sono inoltre gli episodi riconducibili ad un ceppo di *Clostridium barati* in grado di sintetizzare una tossina simil-botulinica, ribattezzata Tipo F-Like (Paisley et al., 1995) e la capacità, da parte di *Cl. butyricum*, di elaborare tossina di tipo E riscontrata nel corso di due casi italiani di botulismo infantile (Aureli et al., 1986 b).

I dati riportati hanno consentito di ipotizzare che, in realtà, i geni per la produzione di tossina botulinica possano essere più diffusi di quanto si pensasse in passato, ma che a volte rimangano inespressi: ipotesi confermata dal riscontro di un gene silente per la produzione di tossina botulinica di tipo B in due ceppi di *Cl. subterminale* (Paisley et al., 1995). Inoltre detti

ceppi non sono in grado di sintetizzare l'enzima lipasi, a differenza del *Cl. botulinum*, elemento che può rendere meno agevole la diagnosi, se non si affiancano alle usuali tecniche microbiologiche anche metodiche biotecnologiche, quali la PCR (Polymerase Chain Reaction), in grado di indagare il genoma batterico.

## L' alimento miele

Tra gli alimenti per la prima infanzia, come riportato, i maggiori sospetti si sono appuntati sul miele, nonostante esso sia normalmente ritenuto non solo uno dei più sani, ma anche uno dei più sicuri dal punto di vista microbiologico. Le sue caratteristiche fisico-chimiche sono infatti tali da porlo al riparo dal rischio di un possibile sviluppo batterico: la sua acidità, dovuta alla presenza di acidi organici, sia liberi che combinati sotto forma di lattoni, determina un pH finale che varia da 3,5 a 5,5, valori che sono in grado di limitare fortemente la replicazione della maggior parte delle specie batteriche.

Analoga considerazione può essere fatta per quanto attiene al parametro  $A_w$  (che indica la quota di  $H_2O$  disponibile in un prodotto alimentare in quanto non integrata in legami intramolecolari e pertanto utilizzabile dai batteri per il loro metabolismo), che nel miele raggiunge valori di 0,58-0,74, a seconda della percentuale di umidità, di zuccheri e dello stato fisico del miele stesso (liquido o cristallizzato). Tenuto conto che per consentire lo sviluppo batterico di norma è necessaria un' $A_w$  di almeno 0,90, è perfettamente comprensibile come gli unici batteri in grado di sopravvivere in una matrice così ostile siano quelli appartenenti ai generi *Bacillus* e *Clostridium*, microrganismi in grado di sporulare.

Il riscontro delle forme di resistenza nel miele potrebbe essere dovuto sia ad una contaminazione primaria (trasporto da parte dell'ape bottinatrice, presenza di polveri ricche di spore), sia ad eventuali carenze igieniche in fase di smielatura (contatto dei telaietti con il terreno, smielatore non sufficientemente pulito) o di confezionamento, dato il carattere ubiquitario delle

spore.

Numerosi sono i dati analitici americani che confermano il ritrovamento di spore del microrganismo in campioni di miele prelevati da abitazioni, alveari, impianti di lavorazione e da confezioni poste in vendita, con percentuali variabili dal 7,5% (Sugiyama et al. 1978) al 13% di campioni californiani (CDC, 1978). Nel nostro paese la situazione si presenta meno allarmante: nonostante indagini condotte (Criseo et al., 1983) abbiano inizialmente evidenziato, su un numero ridotto di campioni (30), percentuali di contaminazioni avvicinati a quelle statunitensi (6,7%), ulteriori ricerche hanno permesso di tracciare un quadro più tranquillizzante, stante l'assenza di spore di *Cl. botulinum* nel miele (Aureli et al., 1983; Cenci et al., 1986; Fiorini et al., 1986 e Quaglio et al., 1988). Tuttavia, nel corso di un'analogha ricerca intrapresa presso l'Istituto di Ispezione degli alimenti di origine animale di Parma, svolta su 118 campioni, è emersa la presenza di spore di *Clostridium* appartenenti a ceppi in grado di sintetizzare tossine botulino-simili, come i precedentemente menzionati *Cl. barati* (5 isolamenti) e *Cl. butyricum* (11 isolamenti) (Censi et al., 1989), nonché la presenza di un ceppo di *Cl. botulinum* tipo G (Censi, 1990).

## Il problema delle spore

Le indagini volte a quantificare il numero di spore nei campioni di miele hanno fornito i più diversi risultati: alcuni ricercatori (Midura et al., 1979) hanno individuato valori varianti da 5 a 25 per grammo, con punte di 70-80, mentre altri non hanno oltrepassato la soglia di 2-7 spore per 25 grammi (Sugiyama et al., 1978). Tali indagini non sono prive di significato dal momento che una delle questioni più controverse riguarda proprio la quantità di spore necessaria per provocare manifestazione clinica riconducibile al botulismo infantile. Si sono a tal fine formulate diverse ipotesi dedotte da esperimenti su topini neonati (Sugiyama et al., 1978) nei quali è stato osservato che la carica

necessaria per infettare il 50% degli animali corrispondeva ad un valore compreso tra le 170 e le 700 spore, per ceppi produttori di tossine di tipo A. Altri autori (David, 1996) riferiscono di studi che situano il valore soglia attorno alle 10-100 spore.

Il rischio è comunque di chiara evidenza e permette di rilevare una correlazione del 35% tra i casi diagnosticati di botulismo infantile e l'ingestione di miele. Il dato è confermato dalla stretta correlazione osservata tra il tipo antigenico della tossina isolata dalle feci dei pazienti e dai campioni di miele ad essi somministrato, così come rilevato da Thompson et al. (1980).

Ciononostante, anche la più recente normativa non ha preso in seria considerazione l'eventualità di un controllo microbiologico del miele, data la trascurabilità del rischio per il consumatore tipo. Infatti il problema della protezione da agenti patogeni è stato solo accennato anche in una recente proposta di Direttiva della U.E., (G.U. CEE C 231-9/8/96), che dovrebbe sostituire la precedente 74/409 recepita in Italia dalla Legge 12/10/1982, n°753. Diverso è stato invece l'approccio negli Stati Uniti d'America, dove l'impatto del problema è stato tale da spingere gli stessi produttori di miele (in particolare la Sioux Honey Association, la maggiore produttrice a livello mondiale) a prevedere un piano di informazione sanitaria rivolto ai consumatori con specifiche raccomandazioni onde impedire la somministrazione di tale alimento ai minori di 12 mesi. Linea di condotta che in tempi successivi è stata seguita anche dall'Associazione tedesca di produttori di alimenti per l'infanzia, che ha dichiarato la sua disponibilità a non impiegare il miele come ingrediente dei suoi prodotti, in attesa di ulteriori investigazioni per meglio chiarire l'entità del rischio (Flemmig et al., 1980).

## Conclusioni

Senza voler minimamente prospettare con toni allarmistici la questione della insorgenza del botulismo infantile legato all'esclusiva assunzione di spore botuliniche veicolate dal miele, riteniamo comunque

giustificate le apprensioni emerse in taluni paesi, quali gli USA e la Germania, proprio per la particolare categoria di utenti interessati. Tali preoccupazioni hanno sicuramente un valido fondamento, per cui riteniamo sia opportuno evitare la somministrazione di miele ai bambini di età inferiore all'anno, prassi che non comporta sicuramente problemi di tipo nutrizionale.

## BIBLIOGRAFIA

1. Arnon S.S., Damus K., Chin J. (1981). Infant botulism: epidemiology and relation to sudden infant death syndrome. *Epidemiology Rev.*, 3, 45.
2. Aureli P. e Accorti M. (1981). Miele e botulismo infantile. *Riv. Soc. It. Sci. Alim.*, 3, 181-184.
3. Aureli P., Ferrini A.M., Negri S. (1983). Ricerca delle spore di *Clostridium botulinum* nel miele. *Riv. Soc. It. Sci. Alimentaz.*, 12, 457-460.
4. Aureli P., Fenicia L., Pasolini B., Gianfranceschi M., Maccroskey L.M., Hatheway C.L. (1986 a). Two cases of type E infant botulism caused by neurotoxicogenic *Clostridium butyricum* in Italy. *J. Infect. Dis.* Vol.154, n°2, 207-211.
5. Aureli P., Hatheway C.L., Fenicia L. e Ferrini A.M. (1986 b). Prime segnalazioni di casi di botulismo infantile in Italia. *Ann. Ist. Sup. San.*, 22, 855-858.
6. Cenci P., Corradini L., Vitaioli M., Prati L., Rausa G. (1986). Primi isolamenti di clostridi patogeni da campioni di miele del commercio. *Atti Conv. 'Recenti acquisizioni sulle infezioni a trasmissione fecale-orale con prevalente localizzazione enterica' 9-10 Maggio*, Ferrara.
7. Censi A., Cremasco S., Maggi E. (1989). *Clostridium* spp. nel miele. *Atti S.I.S.Vet.*, Vol.XLIII.
8. Censi A. (1990). *Clostridium botulinum* tipo G nel miele. *Annali Fac. Med. Vet. Parma*, Vol.10, 125-129.
9. Center for Disease Control (CDC), (1978). Honey exposure and infant botulism. *MMWR* 27: 249-250, 255.
10. Criseo G., Bolignano M.S., De Leo F. (1983). Isolation of *Clostridium botulinum* type B from sycilian honey samples. *Riv. Sci. Alimentari*, 2, 176-181.
11. David J. (1996). Honey: An avoidable risk factor for infant botulism. *Pediatric basics*, 76, Spring.
12. Fenicia L., Ferrini A.M., Aureli P. e Pocecco M. (1993). A case of infant botulism associated with honey feeding in Italy. *European Journal of Epidemiology*, Vol.9, n°6, 671-673.
13. Fiorini C., Donato R., Tiscione E., Bigalli M.P., Ademollo B. (1986). Sui caratteri microbiologici di alcuni mieli del

- commercio. Riv. It. Ig., XLVI, 28-37.
14. Flemmig R., Stojanowic V.(1980). Untersuchungen von Bienenhonig auf Clostridium botulinum-Sporen. Arch. Lebensmittelhygiene, 31, 179-180.
  15. Midura T.F., Snowden S., Wood R.M., Arnon S.S. (1979). Isolation of Clostridium botulinum from honey. J. Clin. Microbiol. Vol. 9, n°2, 282-283.
  16. Paisley J.W., Laurer B.A., Arnon S.S. (1995). A second case of infant botulism Type F caused by Clostridium barati. The Pediatric Infectious Disease Journal, Vol.14, n° 10.
  17. Quaglio P., Messi P., Fabio A. (1988). Indagine sulla presenza di stipiti batterici del genere Clostridium in campioni di miele. Igiene Moderna, 90, 486-496.
  18. Sonnabend W.E., Sonnabend O.A., Grundler P., Ketz E. (1987). Intestinal toxicoinfection by Clostridium botulinum type F in an adult. Case associated with Guillard Barr syndrome. Lancet, 8259, 237-241.
  19. Sugiyama H., Mills D.C., Cathy-Kuo L-J. (1978). Number of Clostridium botulinum spores in honey. J. Food Prot. , Vol. 41, n°11, 848-850.
  20. Thompson J.A., Glasgow L.A., Warpinski J.R., Olson C. (1980). Infant botulism: clinical spectrum and epidemiology. Pediatrics, 66, 936.
  21. Varnam A.H. e Evans M.G. (1991). Clostridium Botulinum, in: Foodborne Pathogens. An illustrated text. Ed Wolfe.

## EPIDEMIOLOGICAL INVESTIGATION ON *LISTERIA* SPP. IN A BOVINE SLAUGHTERHOUSE

Bonardi S.<sup>1</sup>, Bottarelli A.<sup>1</sup>, Fusaro S.<sup>1</sup>, Bentley S.<sup>1</sup>, Gnappi A.<sup>2</sup>, Morini A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Istituto di Ispezione degli Alimenti di origine animale - Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Parma*

<sup>2</sup>*Azienda U. S. L. di Parma - Servizio Veterinario, Distretto Bassa Parmense*

### INTRODUCTION

*Listeria monocytogenes* is a foodborne pathogen associated particularly with the consumption of milk, soft cheeses and vegetables. Reports from well-known epidemic outbreaks stress the role of soft cheeses as vehicles of *L. monocytogenes*; for example, the consumption of Mexican - style soft cheese caused 142 cases of listeriosis in California from January to August 1985 (Linnan et al., 1988), while in Switzerland during the years 1983 to 1987 a large outbreak occurred due to the soft cheese Vacherin Mont d'Or (Bille, 1990). The role of milk as vehicle of the micro-organism was demonstrated in 1983 in Massachusetts, where an epidemic of listeriosis linked to the consumption of pasteurized milk was discovered (Fleming et al., 1985). On that occasion, all human cases of listeriosis were due to pasteurized milk obtained from farms where bovine listeriosis occurred at the time of the outbreak. The same phage-type of *L. monocytogenes* serotype 4b was isolated from both the raw milk of these farms and the human clinical specimens. Since the pasteurization process at the plant had been performed properly at the time of the outbreak, this report suggested the increased heat resistance of intracellular located *L. monocytogenes* strains. An outbreak of human listeriosis linked to the consumption of coleslaw occurred in the Maritime Province of Canada in 1981 (Schlech et al., 1983). Vehicles of *L. monocytogenes* transmission were recognised to be the cabbages grown in fields fertilized with raw manure of a flock of sheep where some cases of ovine listeriosis had occurred in the past.

Although the central role of dairy products and vegetables in transmitting the illness has always been stressed, the microorganism is widespread in the environment and has been isolated from a variety of foods, including raw meat (Carosella, 1990) and meat products (Barbuti et al., 1989; Farber et al., 1989). A survey of about 50 cases of human sporadic listeriosis was carried out in Italy in the years 1985 to 1990 in order to find out the vehicles of infection or the epidemiological associations between illness and sources of the microorganism. Only one case of listeriosis meningitis was considered without a doubt to be of foodborne origin and the vehicle of infection was the raw meat kept in the patient's refrigerator (Casolari et al., 1991). The connection between cases of listeriosis and meat products has been suspected or even demonstrated by a variety of authors such as Schwartz et al. (1988), Cantoni et al. (1989), Kaczmarek and Jones (1989).

Several investigations on the epidemiology of *L. monocytogenes* in dairy farms have shown a relatively high incidence of intestinal carriers of the microorganism (Skovgaard and Morgen, 1988) and therefore contamination by fecal matter during slaughtering might be responsible for the presence of the pathogen on bovine carcasses.

The present study was carried out to estimate the extent of contamination with *Listeria monocytogenes* on bovine hides before slaughtering and on carcasses after de-hiding. Because of the environmental spreading of the microorganism, different slaughterhouse surfaces and many working instruments were checked for the presence of *L. monocytogenes*. The fecal matter of slaughtered animals was also analyzed in order to investigate about intestinal carriers of the pathogen.

## MATERIALS AND METHODS

### Sampling

From September 1996 to May 1997, 625 samples were collected in a 'low-capacity' slaughterhouse (according to Directive 91/497/CEE) in the province of Parma, Italy. Samples were obtained from hides, carcasses, fecal contents, and from the environment like pieces of equipment and working surfaces. For the sampling of hides, bovine carcasses, and environmental surfaces a swab technique was used: an area of 20 cm<sup>2</sup> was sampled and the swabs were put into 2 ml of sterile saline solution. Samples from the hides before slaughtering and the bovine carcasses after dehiding were performed on both shoulders and thighs. From slaughtered animals the fecal content was collected under sterile conditions.

The samples were divided into four different groups:

1. 512 swabs obtained from 128 bovines; from each animal a total of 4 swabs was performed, i. e. 2 swabs on shoulder and thigh before slaughtering and 2 swabs on the same areas after dehiding;
2. 16 swabs performed on the carcasses stored in the chilling room;
3. 45 swabs performed on both environmental surfaces, as slaughterhouse and chilling room walls, and instruments like knives, cleavers, saws and steel gloves.
4. 52 samples of fecal matter collected from the rectum of slaughtered cattle.

### Analytical methods

All samples were analyzed according to USDA - FSIS method, based on two subsequent enrichment steps in *Listeria* Enrichment Broth UVM - 1 and *Listeria* Enrichment Broth UVM - 2 respectively, followed by plating on the selective media *Listeria* Selective Agar - Oxford Formulation (McClain and Lee, 1988).

The swabs were transferred into sterile tubes containing 10 ml of *Listeria* Enrichment Broth UVM - 1 (Oxoid), then incubated for 24 hours at 30° C. Each swab was put into the enrichment broth together with 1 ml of its saline solution. The day after, 0.1 ml of UVM - 1 Broth were transferred to 10 ml of *Listeria* Enrichment Broth UVM - 2 (Oxoid) and incubated again for 24 hours at 30° C. The solid media *Listeria* Selective Agar - Oxford Formulation (Merck) was used for plating and all plates were incubated for 48 hours at 35° C. From each agar plates at least five colonies suspected of being *Listeria* were selected and plated on Columbia Blood Agar with sheep blood (Oxoid). After a 24 hours incubation at 37° C all colonies were Gram - stained, checked for beta hemolysis and tested for biochemical properties using the Microbact 12 L (MedVet) method (Cantoni et al., 1997).

The analytical methods applied to the fecal contents were exactly the same, but for the first enrichment step: 10 g. of fecal matter were mixed with 90 ml of UVM 1 Broth, homogenized and incubated for 24 hours at 30° C. For the second enrichment step 0.1 ml of the UVM 1 Broth were transferred to 10 ml of UVM 2 Broth, as already described.

## RESULTS

*Listeria* spp. strains could be found in 32 of the 625 analysed samples, of which 5 *L. monocytogenes* (15.6 % of all *Listeria* isolates), 25

*L. innocua*, 1 *L. seeligeri* and 1 *L. welshimeri*.

From group I samples (512 swabs of 128 bovines before slaughtering and after dehiding) 1 *L. monocytogenes* and 23 *L. innocua* strains were isolated (Table 1). Most *L. innocua* strains were isolated from the hides: 7% of shoulder hides and 5.5% of thigh hides were contaminated by the bacteria (9 and 7 *L. innocua* strains respectively). *L. monocytogenes* was never isolated from animals before slaughtering. The carcasses after dehiding gave the following results: 3.1% of shoulders and 2.3 % of thighs were contaminated by *L. innocua* (4 and 3 *L. innocua* strains respectively), 0.8% of shoulders were contaminated by *L. monocytogenes* (1 *L. monocytogenes* strain).

Parameter	N°	N° of isolates (%)	<i>Listeria</i> species
Shoulder hide	128	9 (7.0)	<i>L. innocua</i>
Thigh hide	128	7 (5.5)	<i>L. innocua</i>
Shoulder after dehiding	128	4 (3.1)	<i>L. innocua</i>
		1 (0.8)	<i>L. monocytogenes</i>
Thigh after dehiding	128	3 (2.3)	<i>L. innocua</i>
		Total of isolates : 24	

Table 1: Results of group I samples (512 swabs on bovine hides and carcasses after dehiding)

From group II samples (16 swabs performed on bovine carcasses stored in the chilling room) no *Listeria* spp. strains were isolated. Similarly, group III samples (45 swabs performed on both environmental surfaces and working instruments) gave negative results in regard to the isolation of *Listeria* spp.

From group IV samples (52 bovine faeces) 8 *Listeria* spp. strains were isolated (Table 2). The isolation rate was 15.4%: 7.7% samples were positive for *L. monocytogenes* (4 strains), 3.8% for *L. innocua* (2 strains), 1.9 % for *L. seeligeri* and 1.9% for *L. welshimeri* (1 strain each).

<i>Listeria</i> species	N° of isolates	%
<i>Listeria</i> spp.	8	15.4
<i>Listeria monocytogenes</i>	4	7.7
<i>Listeria innocua</i>	2	3.8
<i>Listeria seeligeri</i>	1	1.9
<i>Listeria welshimeri</i>	1	1.9

Table 2: Results of group IV samples (52 slaughtered bovines' fecal content)

## CONCLUSIONS

The present study performed at a bovine 'low-capacity' slaughterhouse shows that the contamination by *L. monocytogenes* and other *Listeria* spp. was limited to animal hides before slaughtering, to bovine carcasses just after dehiding and to fecal matter, while both the environmental structures and the working instruments resulted *Listeria* free.

According to these results, there is no doubt that the bacteria were carried into the slaughterhouse by live animals and that both bovine faeces and hides can be considered important vehicles of *Listeria* spp. The isolation rates decreased from bovine hides ante mortem (16 *L. innocua* strains isolated from 256 shoulder and thigh swabs, i. e. 6.2% ) to bovine carcasses after dehiding (1 *L. monocytogenes* and 7 *L. innocua* strains isolated from 256 shoulder and thigh swabs, i. e. 3.1%). This reduction in the contamination rate demonstrates that well performed slaughtering practice is very important in controlling carcasse bacterial pollution from animal sources. Nevertheless, the most worrying data is the isolation of *L. monocytogenes* from 1 bovine carcasse just after dehiding. The bacterial strain was isolated from the swab performed on the shoulder, but unfortunately that animal's fecal content was not collected and therefore it is not easy to establish the source of contamination. Vehicles of *L. monocytogenes* could be the faecal matter of that slaughtered animal or other bovines' faeces or even different environmental sources. Fortunately, the isolation rate of *L. monocytogenes* from bovine carcasses was rather low, i. e. 0.8%, but the bacteria is able to grow at refrigeration temperatures and therefore the hazard of contaminating near carcasses cannot be ignored.

Bovine carcasses stored in the chilling room did not result to be contaminated by *L. monocytogenes* or other *Listeria* species. This important result bears witness to the low incidence of *Listeria* contamination of carcasses stored in the examined slaughterhouse. All 45 swabs performed on environmental surfaces (walls and floors of the slaughterhouse and of the chilling room) and on working instruments (knives, cleavers, saws and steel gloves) gave negative results with regard to the isolation of *L. monocytogenes* and other *Listeria* species. With no doubt if hygienic measures are respected, as in the examined slaughterhouse, the environmental spread of the microorganisms can be strictly kept under control.

The percentage of cattle carrying *Listeria* spp. in their fecal matter was 15.4%; a similar epidemiological study carried out in Switzerland by Gobat and Jemmi (1990) pointed out a lower number of intestinal carriers, i. e. 8.3%. The percentage of slaughtered bovines shedding *L. monocytogenes* in their faeces was 7.7%, as we isolated 4 *L. monocytogenes* strains from 52 faecal samples. On the contrary, Gobat e Jemmi (1990) did not identify any bovine carrier of *L. monocytogenes* (0.0%), but Skovgaard and Morgen (1988)

found that 39 of 75 samples (52.0%) of bovine faeces collected in different farms contained the microorganism. The shedding rate of *L. innocua* was 3.8 % (2 isolates of 52 samples) and that of *L. seeligeri* and *L. welshimeri* were 1.9% (1 isolate each of 52 samples). Of course the fecal shedding of these bacteria, and especially that of the pathogenic species *L. monocytogenes*, make their total elimination from a bovine slaughterhouse rather impossible. Nevertheless good hygienic measures, first of all the separation of people working in the 'improper' zone from those working in the 'proper' part of the slaughterhouse, can be of the greatest importance in reducing the risk of contamination. As assessed by Gobat and Jemmi (1990) *L. monocytogenes* or *Listeria* spp. can be used as an indicator of germs in a slaughterhouse and can therefore be included in the elaboration of a HACCP program.

The authors thank Mrs. Giuseppina Trentadue and Mrs. Ida Poli for their technical cooperation.

RIASSUNTO. Nel periodo Settembre 1996 - Maggio 1997 in un macello di bovini a capacità limitata della provincia di Parma sono stati prelevati 625 campioni, rappresentati da 512 tamponi eseguiti sulla cute di 128 animali vivi e sulle loro carcasse dopo lo scuoiamento (in corrispondenza delle regioni della spalla e della coscia), 16 tamponi da carcasse stoccate nella cella frigorifera, 45 tamponi ambientali e 52 campioni di materiale fecale, per la ricerca di *Listeria* spp. ed, in particolare, di *L. monocytogenes*. Dalla cute dei bovini prima della macellazione la percentuale di tamponi positivi per *Listeria* spp. è risultata pari al 7% ed al 5,5%, rispettivamente per le regioni della spalla e della coscia; tutti i ceppi isolati appartengono alla specie *L. innocua*. Dalla carcassa subito dopo lo scuoiamento il 3,9% dei tamponi eseguiti in corrispondenza della spalla ha dato esito positivo per *Listeria* spp. (0,8% *L. monocytogenes* e 3,1% *L. innocua*), mentre dalla regione della coscia la percentuale di isolamento è risultata pari al 2,3% (unica specie isolata: *L. innocua*). I tamponi eseguiti sulle carcasse stoccate nella cella frigorifera ed i tamponi ambientali hanno dato esito negativo. Dal 15,4% del materiale fecale si sono isolati batteri appartenenti al genere *Listeria*; in particolare, nel 7,7% dei campioni è stata identificata *L. monocytogenes*, nel 3,8% *L. innocua*, nell' 1,9% *L. seeligeri* e nell' 1,9% *L. welshimeri*.

SUMMARY. From September 1996 to May 1997, 625 samples were collected in a 'low-capacity' slaughterhouse of cattle in the province of Parma, Italy. The samples were collected as follows: 512 swabs performed on 128 animals, both before slaughtering on shoulder and thigh hides and after dehiding on the same areas of the carcasses; 16 swabs performed on bovine carcasses stored in the chilling room; 45 swabs performed on environmental surfaces and on working instruments; 52 samples of fecal matter collected from the rectum of slaughtered bovines. All samples were tested for the presence of *Listeria* spp. and, particularly, *L. monocytogenes*. The isolation rate of *Listeria* spp. from the hides before slaughtering was 7% for the swabs performed on the shoulders and 5.5% for those performed on the thighs. All isolated were identified as *L. innocua*. The isolation rate of *Listeria* spp. from the carcasses just after dehiding was 3.9% for the swabs performed on the shoulder areas (0.8% *L. monocytogenes* and 3.1% *L. innocua*) and 2.3% (all isolates represented by *L. innocua*) for those collected from the thigh areas. All swabs performed on the carcasses stored in the chilling room and those performed on environmental surfaces and working equipment were negative. The rate of slaughtered bovines shedding *Listeria* spp. in their faeces was 15.4%; the rate of *L. monocytogenes* fecal shedding was 7.7%, while 3.8% of slaughtered cattle shedded *L. innocua*, 1.9% *L. seeligeri*, and 1.9% *L. welshimeri*.

ZUSAMMENFASSUNG Von September 1996 bis Mai 1997 haben die Autoren 625 Proben in einem kleinen Rinderschlachthof in der Naeh von Parma (Italien) entgenommen, um die Verbreitung von *Listeria* spp. - und besonders von *L. monocytogenes* - zu untersuchen. Die Autoren haben 512 Wattebaeusche von 128 Rindviehren ante-mortem und post-mortem abgerieben. Besonders wurden die Wattebaeusche je Rindvieh von der Schulterhaut und der Oberschenkelhaut abgerieben. Nach dem Schlachten und dem Abhaeuten wurden die Proben von den entsprechenden Flaechen genommen. Es wurden ausserdem 16 Wattebaeusche von ebensovielen Rinderhaelften, die sich in der Kuehlzelle befanden, abgerieben. Von einigen Schlachthofflaechen und Schlachtwerkzeugen wurden 45 Wattebaeusche abgerieben. Die Autoren haben ausserdem 52 Faekalienproben von ebensovielen geschlachten Rindviehen genommen.

Die Ergebnisse unserer Untersuchung werden als Isolierungprozentual ausgedrueckt:

- n 7% *Listeria* spp. von den Schulterhautwattebaeuschen (alle *L. innocua* Staemme)
- n 5,5% *Listeria* spp. von den Oberschenkelhautwattebaeuschen (alle *L. innocua* Staemme)
- n 3,9% *Listeria* spp. von den Schulterwattebaeuschen nach dem Schlachten und dem Abhaeuten (0,8% *L. monocytogenes* und 3,1% *L. innocua*)

- n 2,3% *Listeria* spp. von den Oberschenkelwattebaeuschen nach dem Schlachten und dem Abhaeuten (alle *L. innocua* Staemme)  
- n 15,4% *Listeria* spp. von den Faekalienproben (7,7% *L. monocytogenes*, 3,8% *L. innocua*, 1,9% *L. seeligeri* und 1,9% *L. welshimeri*)  
Keinen Listeriastamm haben die Autoren von den anderen Wattebaeuschen isoliert.

Keywords: *Listeria* spp., *Listeria monocytogenes*, slaughterhouse, bovine carcasses, bovine faeces

Parole chiave: *Listeria* spp., *Listeria monocytogenes*, macello, carcasse bovine, feci bovine

Schluesselwoerter: *Listeria* spp., *Listeria monocytogenes*, Schlachthof, Rinderhaelften, Rinderfaekalien

## REFERENCES

- Barbuti S., Chisi M., Campanini M. - Listeria in prodotti carnei: isolamento, incidenza e caratteristiche di sviluppo. *Industria Conserve*, 64, 221, 1989.
- Bille J. - Epidemiology of human listeriosis in Europe, with special reference to Swiss outbreak. In: A. J. Miller, J. L. Smith, and G. A. Somkuti, *Foodborne listeriosis*. Society for Industrial Microbiology. Elsevier Science Publishing, Inc., New York, 1990.
- Cantoni C., Balzaretto C., Valenti M. - A case of *L. monocytogenes* human infection associated with consumption of 'testa in cassetta' (cooked meat pork product). *Arch. Vet. Ital.*, 40, 141 - 142, 1989.
- Cantoni C., Romagnoni S., D'Aubert S. - Identificazione di *Listeria* spp. con Microbact 12L e Api Listeria System. *Industrie Alimentari*, 36, 2, 139 - 140, 1997.
- Carosella J. M. - Occurrence of *Listeria monocytogenes* in meat and poultry. In: A. J. Miller, J. L. Smith, G. A. Somkuti - *Foodborne listeriosis*. Society for Industrial Microbiology. Elsevier Science Publishing Inc., New York, 1990.
- Casolari C., Farina C., Caola I., Facinelli B., Fabio U. - Considerazioni microbiologiche e clinico - epidemiologiche su 50 casi di listeriosi umana. *Microbiol. Medica*, 6, 5, 141 - 146, 1991.
- Farber J. M., Sanders G. W., Johnson M. A. - A survey of various foods for the presence of *Listeria* species. *J. Food Prot.*, 52, 456, 1989.
- Fleming D. W., Cochi S. L., MacDonald K. L., Brondum J., Hayes P. S., Plikaytis B. D., Holmes M. B., Audurier A., Broome C. V., Reingold A. L. - Pasteurized milk as a vehicle of infection in an outbreak of listeriosis. *N. Eng. J. Med.*, 312, 404 - 407, 1985.
- Gobat P. F., Jemmi T. - Epidemiological studies on *Listeria* spp. in slaughterhouses. *Fleishwirtsch.*, 70, 1448 - 1450, 1990.
- Kaczmarek E. B., Jones D. M. - Listeriosis and ready cooked chicken. *Lancet* 8637, 549, 1989.
- Linnan M. J., Mascola L., Lou X. D., Goulet V., May S., Salminen C., Hird D. W., Yonekura M. L., Hayes P., Weaver R., Audurier A., Plikaytis B. D., Fannin S. L., Kleks A., Broome C. V. - Epidemic listeriosis associated with Mexican-style cheese. *N. Engl. J. Med.*, 319, 823 - 828, 1988.
- McClain D., Lee W. H. - Development of USDA - FSIS method for isolation of *Listeria monocytogenes* from raw meat and poultry. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 71, 660 - 664, 1988.
- Schlech W. F., Lavigne P. M., Bortolussi R. A., Allen A. C., Haldane E. V., Wort A. J., Hightower A. W., Johnson S. E., King S. H., Nicholls E. S., Broome C. V. - Epidemic listeriosis - evidence for transmission by food. *N. Engl. J. Med.*, 308, 203 - 206, 1983.
- Schwartz B., Broome C. V., Brown G. R., Hightower A. W., Ciesielsky C. A., Gaventa S., Gellin B. G., Mascola L. - Association of sporadic listeriosis with consumption of uncooked hot dogs and undercooked chicken. *Lancet* II, 8614, 779 - 782, 1988.
- Skovgaard N., Morgen C. A. - Detection of *Listeria* spp. in faeces from animals, in feeds and in raw foods of animal origin. *Int. J. Food Microbiol.*, 6, 229 - 242, 1988.

# SENSIBILITA' AD ANTIBIOTICI (MCI) DI STIPITI DI *BACILLUS CEREUS* ISOLATI DA FORMAGGIO GRATTUGIATO\*

Franco Brindani<sup>1</sup>, Maria Cristina Ossiprandi<sup>2</sup>, Cristina Bacci<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Istituto di Diagnostica e Tossicologia Sperimentale Veterinaria, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Parma.

<sup>2</sup>Istituto di Microbiologia, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Parma.

<sup>3</sup>Biologo.

\* Ricerca eseguita con contributo MURST 60%.

## Premessa

Il termine 'intossicazione alimentare' viene talora impropriamente utilizzato per indicare sia gli stati morbosi conseguenti all'ingestione di tossina, sia quelli derivanti da infezioni dell'apparato gastroenterico.

Apparirebbe opportuno, pertanto, una distinzione tra 'intossicazione' che può essere considerata il risultato dell'assunzione sia di sostanze chimiche ad azione tossica, sia di tossine microbiche e 'infezione', legata all'ingestione, assieme all'alimento, di microrganismi vivi ed alla conseguente reazione dell'organismo alla loro presenza.

D'altra parte, una rigida suddivisione tra le due forme morbose, alla luce delle aumentate conoscenze scientifiche al riguardo, non può risultare così netta come un tempo.

Anche se alcuni ricercatori ritengono che le forme gastroenteriche sostenute da *Clostridium perfringens* e da *Bacillus cereus* dovrebbero essere classificate tra le intossicazioni piuttosto che tra le infezioni, altri, considerando che un notevole numero di cellule vive può essere ingerito e può continuare a duplicarsi nell'intestino, rilasciando conseguentemente la tossina in vivo anziché nell'alimento, sono di diverso avviso (1, 2, 6, 7, 9, 12).

*B. cereus*, in particolare, può essere in grado di indurre sia una sindrome emetica, di recente segnalazione (1975), sia una forma enterica, nota già dal 1906, ma ben documentata solo negli anni '70 (9, 15).

Mentre la rapida comparsa della sindrome emetica rende più probabile la presenza della tossina nell'alimento, il più lento instaurarsi della forma enterica potrebbe essere in relazione anche con il moltiplicarsi del microorganismo in vivo.

Sulla base di queste considerazioni abbiamo ritenuto interessante individuare quali fossero le minime concentrazioni inibenti (MCI) di antibatterici in grado di inibire stipiti di *B. cereus*. Tali batteri, alcuni dei quali con caratteristiche tossigene, evidenziate mediante agglutinazione passiva inversa al lattice (8), erano stati da noi isolati nel corso di precedenti indagini da prodotti a base di latte (3).

## Materiali e metodi

Gli stipiti oggetto della presente indagine provengono in parte dalla normale rete distributiva dei prodotti alimentari ed in parte dalla catena produttiva di aziende che commercializzano il formaggio grattugiato.

Per la determinazione delle minime concentrazioni inibenti (MCI) ci si è avvalsi del sistema E Test (AB Biodisk). Tale metodica è il risultato della combinazione di due procedimenti: diluizione dell'antibiotico su di un supporto inerte (striscia di plastica) e suo immediato rilascio alla matrice (terreno solido).

Per l'esecuzione di questo test gli stipiti da saggiare, dopo coltivazione in Trypticase Soy Broth (Oxoid) a 35° C per 18-24 ore, venivano diluiti mediante lettura spettrofotometrica a 600 nm sino ad una concentrazione equivalente a 0,5 della scala di Mc. Farland (circa 108 cellule/ml). La sospensione veniva quindi strisciata, mediante tampone sterile, su piastre allestite con il terreno di cui sopra, agarizzato. Dopo aver posto su queste le strisce con diluizioni scalari di antibiotico, da 0,02 a 32 µg o da 0,016 a 256 µg, le piastre venivano incubate per 18-24 ore a 35° C.

E' stata, in tal modo, verificata la sensibilità degli stipiti di *B. cereus* nei confronti di eritromicina, oxacillina, tetraciclina, dell'associazione amoxicillina-acido clavulanico (2:1) e di esponenti delle quattro classi di cefalosporine: cefalotin (I), cefuroxime (II), cefotaxime (III) e cefepime (IV).

## Risultati e considerazioni

I risultati del test eseguito sono riportati, assieme alle caratteristiche enterotossigene, nella tabella n. 1, dal cui esame emerge che alcuni antibiotici, quali oxacillina e cefuroxime, si rivelano inefficaci nei confronti degli stipiti considerati, mentre altri (eritromicina, cefalotin) appaiono attivi verso la totalità dei ceppi saggiati.

Stipiti	Produzione di enterotossina	Antibiotici ( $\mu\text{g/ml}$ )							
		Eritromicina	Oxacillina	Tetraciclina	Amoxicillina-acido clavulanico (2:1)	Cefalotin	Cefuroxime	Cefotaxime	Cefepime
1	A	0,047	32	0,50	2	6	32	24	32
2	M	>0,016	24	0,25	2	8	>32	16	24
3	A	0,38	>256	0,19	3	6	>32	16	16
4	E	0,064	>256	1,0	16	>32	>32	>32	>256
5	A	1,0	16	0,25	2	4	>32	32	>256
6	A	0,75	>256	16	3	16	>32	0,50	48
7	M	0,047	32	32	2	6	>32	0,75	48
8	A	0,047	48	32	2	6	>32	0,75	48
9	A	0,023	32	32	2	6	>32	0,75	12
10	E	0,032	>256	>256	6	24	>32	1,5	96
11	A	0,032	48	48	6	24	>32	1,5	96
ATCC 9634	A	0,032	48	48	6	24	>32	0,047	96

Legenda: A = assenza di produzione  
M = modesta produzione ( $\leq 2$  ng/ml)  
E = elevata produzione ( $> 2$  ng/ml)

Tabella n. 1: Produzione di enterotossina e minime concentrazioni inibenti (MCI), relative agli antibiotici saggiati, attive nei confronti degli stipiti di *Bacillus cereus* isolati da formaggio grattugiato.

Efficacia di livello intermedio viene evidenziata dall'associazione amoxicillina-acido clavulanico (2:1), tetraciclina e cefepime nei cui confronti appaiono insensibili rispettivamente 4, 7 e 9 stipiti. I ceppi di *B. cereus* evidenziati le più elevate produzioni di enterotossina (nn. 4 e 10) si sono pure dimostrati insensibili alla maggioranza degli antibiotici presi in considerazione, risultando sensibili solamente a eritromicina e tetraciclina (n. 4) ed a cefotaxime e eritromicina (n. 10). Quest'ultimo antibiotico si è rivelato pure notevolmente efficace nei confronti degli altri due stipiti (nn. 2 e 7) dotati di media attività tossigena.

Anche lo stipite di collezione ATCC 9634, *B. cereus* var. *mycoides*, è stato sottoposto al test MCI venendone preso in considerazione l'impiego quale indicatore della presenza di residui di antibiotici negli alimenti, in alternativa a *Bacillus stearothermophilus* (13, 14). Tale stipite, almeno dalle nostre risultanze, relativamente agli antibiotici considerati, appare sensibile solamente a eritromicina e cefotaxime, il che potrebbe far sorgere qualche dubbio sul suo utilizzo in tal senso.

Alla luce delle considerazioni fatte in premessa e sulla base dei risultati ottenuti dalla nostra esperienza, appare possibile che la gravità di sindromi enteriche, epidemiologicamente imputabili a *B. cereus*, possa essere ridotta dalla precoce assunzione di antibiotici efficaci nei confronti di tale microorganismo quali eritromicina o cefalosporine di prima generazione (cefalotin).

Il riscontro di un discreto numero di resistenze negli stipiti di *B. cereus* oggetto dell'indagine, appare superiore a quanto riportato in passato dalla letteratura, per la verità relativamente esigua, (4, 5, 10, 11).

Tale situazione potrebbe essere messa in relazione, almeno per gli stipiti isolati da prodotti a base di latte, con l'impiego, ancor oggi indiscriminato di antibiotici che dovrebbero essere riservati al trattamento delle infezioni in campo umano, nella terapia di sindromi mastitiche degli animali da latte.

Parole chiave: *Bacillus cereus*, tossina, antibiotico resistenza.

Key words: *Bacillus cereus*, toxin, antibiotic resistance.

Riassunto. Vengono riportati i risultati di ricerche relative all'attività tossigena ed all'antibiotico resistenza (MCI) di stipiti di *Bacillus cereus* isolati da campioni di formaggio grattugiato. Pur essendo stato riscontrato un numero di resistenze superiori rispetto al passato, *B. cereus* si rivela sensibile a eritromicina e cefalotin.

Summary. Antibiotic sensibility of *Bacillus cereus* strains from grated cheese. The results of researches about toxigenic activity and antibiotic resistance (MIC) of *Bacillus cereus* strains are related. Even though in the past a lower number of resistences has been found, *B. cereus* shows sensibility to eritromicin and cefalotin.

1. ADAMS M.R., MOSS M.O. (1995). *Bacillus cereus* and other *Bacillus* species. In 'Food Microbiology' pg. 160-164, Ed. The Royal Society of Chemistry, Cambridge.
2. BANWART G.J.(1989). *Bacillus cereus* gastroenteritis. In 'Basic Food Microbiology' pg. 285-287. Ed. Van Nostrand Reinhold, New York.
3. BRINDANI F., OSSIPRANDI M.C. FRESCHI E. (1994). Isolamento e caratterizzazione di stipti di *Bacillus cereus* da prodotti a base di latte. Ann. Fac. Med. Vet. Parma, XIV, 267-280.
4. BROWN R.W., SCHERER R.K. (1957). A report of two cases of acute mastitis caused by *Bacillus cereus*. Cornell Vet., 47, 226-240.
5. CHMIELOWSKI W. (1979). Antibiotic resistance of *Bacillus cereus* strains isolated from products and alimentary poisoning. Med. Weter., 35, 276-277.
6. DROMIGNY E., VINCENT P., JOUVE J.L. (1990). *Bacillus cereus*. In 'Microbiologia Alimentare' pg. 98-102, Ed. Tecniche Nuove, Milano.
7. FRAZIER W.C., WESTHOFF D.C. (1988). Food-borne illness: bacterial. In 'Food microbiology' (Elizabeth Dollinger Edt.) pp. 401-439., Mc Grow-Hill Book Co., Singa-pore.
8. GRIFFITH M.W. (1990). Toxin production by psychrotrophic *Bacillus* spp. present in milk. J. Food Prot., 53, 790-792.
9. JAY J.M. (1992). Food poisoning caused by Gram-positive sporeforming bacteria. In 'Modern food microbiology' 4th edn., pg. 479-503., Van Nostrand Reinhold, New York.
10. JOHNSON K.M. (1984). *Bacillus cereus* foodborne illness - An update. J. Food Prot., 47, 145-153.
11. KAMAT A.S., NERKAR D.P., NAIR P.M. (1989). *Bacillus cereus* in some Indian foods, incidence and antibiotic, heat and radiation resistance. J. Food Saf., 10, (1), 31-41.
12. SEARS L.C., KAPER J.B. (1996). Enteric bacterial toxins: mechanisms of action and linkage to intestinal secretion. Microbiol. Rev., 60, (1), 167-215.
13. SUHREN G., HEESCHEN W. (1993). Detection of tetracyclines in milk by a *Bacillus cereus* microtitre test with indicator. Milchwissenschaft, 48, 259-263.
14. SUHREN G., HEESCHEN W. (1994). Proficiency study of microbial inhibitor tests. Milchwissenschaft, 49, 629-633.
15. SZABO R.A., TODD E.C.D., RAYMAN M.K. (1984). Twenty-four hours isolation and confirmation of *Bacillus cereus* in foods. J. Food Prot., 47, 856-860.

# RELAZIONE TRA LA CONSISTENZA DEL COAGULO - VALUTATA CON DIFFERENTI CRITERI MEDIANTE FORMAGRAPH - E IL CONTENUTO IN CASEINA DEL LATTE\*

P. Mariani<sup>1</sup>, A. Summer<sup>1</sup>, G. Zanzucchi<sup>1</sup>, S. Fieni<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Istituto di Zootecnica, Alimentazione e Nutrizione, Università degli Studi, via del Taglio 8 - 43100 Parma

<sup>2</sup>Centro Lattiero Caseario, via Torelli 17, Parma

\* Lavoro eseguito nell'ambito del programma di sperimentazione della regione Emilia Romagna, con il coordinamento tecnico-organizzativo del Centro Ricerche Produzioni Animali di Reggio Emilia

## Introduzione

L'attitudine alla coagulazione rappresenta un requisito di primaria importanza nella valutazione tecnica del latte destinato alla trasformazione casearia, segnatamente nel caso dei formaggi a pasta dura e a lungo periodo di maturazione (1, 2) la cui produzione si basa essenzialmente sulla formazione e la cottura di una cagliata lattico-presamica, le cui caratteristiche reologiche (elasticità, permeabilità e contrattilità) dipendono in larga misura dalle proprietà fisico-chimiche del sistema micellare.

La tecnica lattodinamografica rappresenta un buon criterio di valutazione complessiva delle principali caratteristiche tecnologico-casearie del latte (acidità, caseina, equilibri salini, etc.), la cui conoscenza è di basilare importanza ai fini della caseificazione (2-6). I parametri  $r$ ,  $k_{20}$  e  $a_{30}$ , rispettivamente, tempo di coagulazione del latte, tempo di rassodamento del coagulo e consistenza del coagulo misurata a 30 min dall'aggiunta del caglio, forniscono indicazioni tecnologicamente utili ai fini della valutazione complessiva del comportamento del latte con il caglio (7, 8).

Tuttavia, dato che questi valori sono tra loro correlati (9-12), tali informazioni possono risultare talvolta parziali. Ciò si verifica soprattutto quando ci si allontana dalle normali condizioni acidimetriche di sviluppo della reazione enzimatica (13), per cui, ad esempio, ad un eccessivo allungamento del tempo di coagulazione ( $r$ ) corrisponde quasi automaticamente una riduzione della consistenza del coagulo ( $a_{30}$ ), fatto non necessariamente dovuto a minori contenuti di caseina e/o di fosfato di calcio colloidale, costituenti cui tale caratteristica è in gran parte legata. Si perde in tal modo una informazione importante e le osservazioni possono risultare contrastanti (14-19).

In questa nota si prende in esame la possibilità di ricavare dall'analisi lattodinamografica un parametro di coagulazione diverso da  $a_{30}$  che, svincolato dal tempo di coagulazione, sia in grado di fornire una indicazione sufficientemente attendibile della consistenza del coagulo ancorata al contenuto in caseina del latte.

## Materiali e metodi

La ricerca è stata condotta su 314 campioni di latte individuale di altrettante vacche di razza Bruna di 14 allevamenti in provincia di Parma. Sui campioni di latte della mungitura del mattino sono state effettuate le seguenti determinazioni: parametri lattodinamometrici (7) con Formagraph (20, 21); N totale e N non caseinico mediante Kjeldahl (22); cloruri per titolazione secondo Charpentier-Volhard (23); cellule somatiche con Fossomatic 250 (24).

In aggiunta ai parametri  $r$ ,  $k_{20}$  e  $a_{30}$  sono stati rilevati:  $a_{45}$  = consistenza del coagulo misurata a 45 min dall'aggiunta del caglio e  $a_{1/2r}$  = consistenza del coagulo ( $a$ ) misurata a parità di tempo di coagulazione ( $1/2r$ ). Inoltre, su 67 campioni di latte è stata rilevata anche la consistenza del coagulo ( $E$ ) misurata a 30 min dall'inizio della coagulazione (6).

Dalla elaborazione (25) sono stati esclusi i campioni caratterizzati da valori anomali di cellule somatiche (elevati), cloruri (elevati) e indice di caseina (bassi), tali da indicare nel complesso significative alterazioni della secrezione latte.

## Risultati e discussione

I risultati sono riportati nelle tabelle 1-6 e in parte illustrati nella figura 1. Le prime quattro tabelle riguardano i rapporti tra il contenuto di caseina e la consistenza del coagulo misurata, sia a 30 min dall'aggiunta del caglio, sia a parità di tempo di coagulazione; mentre le altre due interessano la consistenza del coagulo misurata a 30 min dall'inizio della coagulazione.

1) *Caseina e consistenza del coagulo misurata a parità di tempo di coagulazione.* - Nella tabella 1 sono riportati i valori medi del contenuto di caseina e dei parametri di coagulazione dei 314 lattini individuali utilizzati per lo studio generale delle correlazioni tra caseina e consistenza del coagulo. La variabilità delle caratteristiche - anche dopo l'esclusione dei lattini fortemente anomali, per lo più mastitici - risulta adeguatamente ampia, in particolare quella relativa alla consistenza del coagulo misurata a 30 min dall'aggiunta del caglio (range=47 mm); altrettanto buona è la variabilità riguardante il contenuto di caseina (range=1.38g/100g latte). I valori medi dei parametri cellule somatiche, cloruri e indice di caseina - utilizzati per valutare le condizioni fisiologiche della secrezione latte - risultano pressoché ottimali. Abbastanza buone, nel complesso, appaiono le proprietà lattodinamometriche: il tempo di coagulazione è da ritenere tendenzialmente lungo; mentre risultano mediamente bassi i valori relativi alla consistenza del coagulo.

Tabella 1 Caratteristiche di coagulazione dei latti individuali utilizzati per lo studio generale delle correlazioni (n=314)

Table 1 - Rennet coagulation characteristics of individual milks used for the relationships study (n=314).†

			Media Mean	DS SD	CV%	Min.	Max.
Ph	pH	—	6.69	0.06	0.94	6.52	6.88
Acidità titolabile	Titratable acidity	°SH/50 ml	3.65	0.38	10.30	2.65	4.95
r	Clotting time	min	18.4	4.98	27.01	6.5	32.7
k <sub>20</sub>	Curd firming time	min	8.9	3.85	43.21	2.8	30.5
a <sub>30</sub>	Curd firmness (1)	mm	25.5	11.99	47.02	0.5	47.5
a <sub>45</sub>	Curd firmness (2)	mm	38.1	8.15	21.38	14.0	57.0
a <sub>1/2r</sub>	Curd firmness (3)	mm	22.0	4.69	21.32	9.0	34.0
Caseina	Milk casein	g/100g	2.73	0.26	9.40	2.05	3.43
Cellule somatiche	Somatic cells	1000/ml	137	141.2	103.02	14	747
Cloruri, Cl <sup>-</sup>	Chloride, Cl <sup>-</sup>	mg/100 g	87.9	10.17	11.57	59.4	112.0
Indice caseina	Casein number	—	77.91	1.88	2.41	73.41	82.91
Stadio lattazione	Lactation stage	d	144.1	60.6	42.07	28	531
Ordine lattazione	Lactation order	no.	3.20	1.50	46.91	1	8
Produzione latte	Actual milk yield	kg / d	18.5	5.52	29.92	8.2	37.2

(1) Consistenza del coagulo (a) misurata a 30 min dall'aggiunta del caglio.

(1) *Curd firmness (a) measured 30 min after rennet addition.*

(2) Consistenza del coagulo (a) misurata a 45 min dall'aggiunta del caglio.

(2) *Curd firmness (a) measured 45 min after rennet addition.*

(3) Consistenza del coagulo (a) misurata a parità di tempo di coagulazione (1/2r).

(3) *Curd firmness (a) "adjusted" for the clotting time (1/2r).*

I tre parametri convenzionali dell'analisi lattodinamografica (r, k<sub>20</sub> e a<sub>30</sub>) risultano tra loro strettamente correlati, a livelli di probabilità di errore inferiori a 1 per 10.000 (Tab.2). La correlazione negativa tra il tempo di coagulazione (r) e la consistenza del coagulo misurata a 30 min dall'aggiunta del caglio (a<sub>30</sub>) assume un valore molto elevato, pari a -0.89 (P<0.0001).

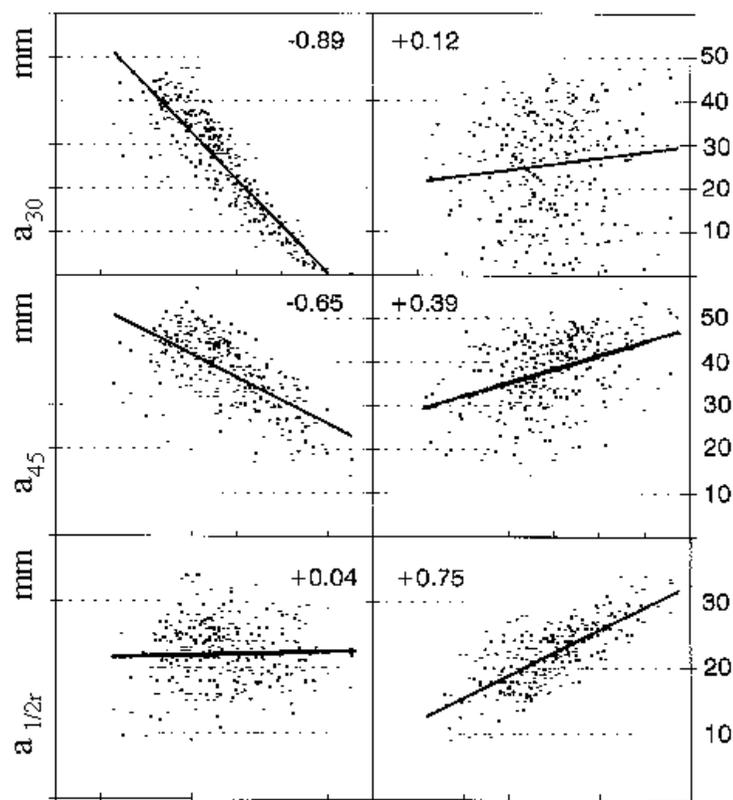
In tali condizioni la correlazione positiva tra contenuto in caseina del latte e consistenza del coagulo (a<sub>30</sub>) risulta molto debole, pari a +0.12 (P<0.05).

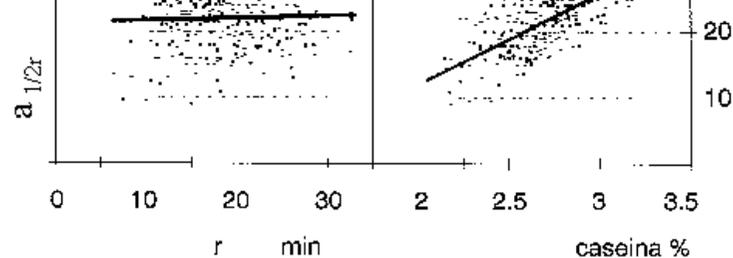
Tabella 2 - Coefficienti di correlazione tra contenuto in caseina del latte e consistenza del coagulo (312 GL)  
 Table 2 - Correlation coefficients between milk casein content and curd firmness (312 degrees of freedom).

	$k_{20}$	$a_{30}$	$a_{45}$	$a_{1/2r}$	Casein
r (1)	0.58 ****	- 0.89 ****	- 0.65 ****	0.04 NS	0.21 ***
$k_{20}$ (2)		- 0.80 ****	- 0.91 ****	- 0.68 ****	- 0.39 ****
$a_{30}$ (3)			0.89 ****	0.38 ****	0.12 *
$a_{45}$ (3)				0.68 ****	0.39 ****
$a_{1/2r}$ (3)					0.75 ****

(1) Tempo di coagulazione del latte.  
 (1) Clotting time.  
 (2) Tempo di rassodamento del coagulo.  
 (2) Curd firming time.  
 (3) Consistenza del coagulo come indicato in tabella 1.  
 (3) Curd firmness, as indicated in table 1.  
 NS,  $P > 0.05$ ; \*  $P \leq 0.05$ ; \*\*\*  $P \leq 0.001$ ; \*\*\*\*  $P \leq 0.0001$

Per contro, la correlazione tra tempo di coagulazione (r) e consistenza del coagulo misurata a parità di tempo di coagulazione ( $a_{1/2r}$ ) risulta, come da condizione sperimentale, statisticamente non diversa da zero, precisamente pari a +0.04 ( $P > 0.05$ ). In questo caso, la correlazione positiva tra contenuto in caseina del latte e consistenza del coagulo ( $a_{1/2r}$ ) si manifesta più compiutamente e risulta molto elevata, pari a +0.75 ( $P < 0.0001$ ). Anche la consistenza del coagulo valutata a 45 min dall'aggiunta del caglio ( $a_{45}$ ) risulta parzialmente svincolata dal tempo di coagulazione e, comunque, appare indipendente in misura tale da stabilire con il contenuto di caseina una associazione abbastanza stretta (+0.39), altamente significativa ( $P < 0.0001$ ). Le rette di regressione riportate nella figura 1 illustrano chiaramente il fenomeno.





In effetti, dal calcolo delle corrispondenti correlazioni parziali di primo ordine (a parità di tempo di coagulazione) è possibile mettere in evidenza che il coefficiente relativo a "caseina e consistenza  $a_{1/2r}$ " si modifica poco (+0.76), mentre aumenta significativamente il grado di associazione tra "caseina e consistenza  $a_{30}$ " (+0.67) ; si modifica in misura importante anche la correlazione tra "caseina e consistenza  $a_{45}$ " (+0.71). Azzerando l'effetto del tempo di coagulazione, quindi, la consistenza del coagulo, misurata con i tre criteri, risulta in tutti i casi ben ancorata al contenuto in caseina del latte.

D'altro canto i risultati della elaborazione dei dati secondo 3 classi di tempo di coagulazione - riportati nelle tabelle 3 e 4 - dimostrano chiaramente che la mancanza di una correlazione significativa tra contenuto di caseina e consistenza del coagulo misurata a 30 min dall'aggiunta del caglio è dovuta alla stretta correlazione negativa (non funzionale) che si stabilisce tra consistenza  $a_{30}$  e tempo di coagulazione del latte. Nelle tre classi, a parità di contenuto di caseina, la consistenza  $a_{30}$  varia in rapporto inverso al tempo di coagulazione, mentre la consistenza  $a_{1/2r}$  resta praticamente invariata (Tab.3). I valori delle correlazioni riportati nella tabella 4 chiariscono ampiamente il fenomeno. La correlazione tra caseina e consistenza  $a_{1/2r}$  resta pressoché costante nelle tre classi (+0.76, +0.78, +0.72), in quanto svincolata dal tempo di coagulazione, mentre quella tra caseina e consistenza  $a_{30}$  varia sensibilmente in rapporto al vincolo che si stabilisce tra  $r$  ed  $a_{30}$ , assumendo valori compresi tra +0.62 quando il vincolo è basso (-0.10) e +0.13 quando il vincolo è elevato (-0.86) (Tab.4).

Tabella 3 - Elaborazione dati secondo tre classi di tempo di coagulazione ( $r$ ): valori medi delle caratteristiche (n=314 lattini individuali).

Table 3 - Data processed according to three clotting time ( $r$ ) classes: mean values of the characteristics (n=314 individual milks).

		Classi tempo di coagulazione (min) - Clotting time classes (min)			
			≤ 15.0	15.1 + 21.0	> 21.0
Osservazioni	Observations	no.	88	136	90
$r$	Clotting time	min	12.8 ± 1.9	17.9 ± 1.7	24.8 ± 2.6
$a_{30}$	Curd firmness (1)	mm	36.7 ± 6.3	28.1 ± 6.9	10.6 ± 5.9
$a_{1/2r}$	Curd firmness (2)	mm	21.3 ± 4.9	22.7 ± 4.6	21.6 ± 4.4
Caseina	Milk casein	g/100g	2.64 ± 0.26	2.76 ± 0.25	2.76 ± 0.24
pH	pH	—	6.66 ± 0.06	6.69 ± 0.05	6.73 ± 0.06
Stadio lattazione	Lactation stage	d	127 ± 73	143 ± 57	163 ± 45

(1) (2) Consistenza del coagulo come indicato in tabella 1.

(1) (2) Curd firmness, as indicated in table 1.

Tabella 4 - Elaborazione dati secondo tre classi di tempo di coagulazione (r): coefficienti di correlazione (n=314 latti individuali).  
 Table 4 - Data processed according to three clotting time (r) classes: correlation coefficients (n=314 individual milks)

		Classi tempo di coagulazione (min) - Clotting time classes (min)		
		≤ 15.0	15.1 + 21.0	> 21.0
Gradi di libertà - Degrees of freedom		86	134	88
a <sub>30</sub> (1)	vs r	- 0.10 NS	- 0.66 ****	- 0.86 ****
a <sub>30</sub> (1)	vs casein	0.62 ****	0.53 ****	0.13 NS
a <sub>1/2r</sub> (2)	vs r	0.29 **	- 0.08 NS	0.01 NS
a <sub>1/2r</sub> (2)	vs casein	0.76 ****	0.78 ****	0.72 ****

(1) (2) Consistenza del coagulo come indicato in tabella 1.

(1) (2) Curd firmness, as indicated in table 1.

NS, P>0.05; \*\* P≤0.01; \*\*\*\* P≤0.0001

2) Caseina e consistenza del coagulo misurata a 30 min dall'inizio della coagulazione. - Nella tabella 5 sono riportati i valori medi delle caratteristiche dei 67 latti individuali utilizzati per l'analisi di questa correlazione. Il comportamento del parametro E<sub>30</sub>, consistenza del coagulo (E) misurata a 30 min dall'inizio della coagulazione (6), risulta intermedio rispetto a quelli di a<sub>45</sub> e di a<sub>1/2r</sub> (Tab.6). Nell'ambito di questo campione, infatti, la consistenza E<sub>30</sub> appare relativamente più svincolata dal tempo di coagulazione (-0.39; P<0.01) rispetto alla consistenza a<sub>45</sub> (-0.65; P<0.0001); di conseguenza, la consistenza E<sub>30</sub> risulta maggiormente correlata con il contenuto di caseina (+0.44; P<0.001) rispetto alla consistenza a<sub>45</sub> (+0.31; P<0.05). Per la consistenza a<sub>1/2r</sub> i due coefficienti di correlazione, con il tempo di coagulazione e con il contenuto di caseina, risultano rispettivamente pari a +0.01 (P>0.05) e a +0.57 (P<0.0001); quest'ultimo, pur essendo inferiore rispetto al coefficiente calcolato per il campione più numeroso di tabella 2, appare ugualmente un buon indice del grado di associazione che intercorre tra contenuto in caseina del latte e consistenza del coagulo.

Tabella 5 - Caseina e consistenza del coagulo E<sub>30</sub>(1): caratteristiche di coagulazione di 67 latti individuali (n=67).  
 Table 5 - Milk casein and curd firmness, E<sub>30</sub>(1): rennet coagulation characteristics of 67 individual milks (n=67)

			Media Mean	DS SD	CV%	Min.	Max.
r	Clotting time	min	17.4	4.7	27.00	10.0	28.4
k <sub>20</sub>	Curd firming time	min	8.7	4.2	48.44	4.1	27.0
a <sub>30</sub>	Curd firmness (2)	mm	28.2	11.8	41.74	3.2	47.5
a <sub>45</sub>	Curd firmness (2)	mm	39.6	8.2	20.80	17.0	57.0
E <sub>30</sub> (1)	Curd firmness (1)	mm	41.3	6.6	16.02	22.0	57.1
a <sub>1/2r</sub>	Curd firmness (2)	mm	21.6	4.6	21.30	9.5	34.0
Caseina	Milk casein	g/100g	2.58	0.24	9.19	2.05	3.12
Cellule somatiche	Somatic cells	1000/ml	160	167.4	104.64	14	747
Cloruri, Cl <sup>-</sup>	Chloride, Cl <sup>-</sup>	mg/100	87.0	11.6	13.34	65.1	112.0
Indice caseina	Casein number	g	78.20	2.02	2.58	73.41	82.27

(1) Consistenza del coagulo (E) misurata a 30 min dall'inizio della coagulazione presamica.  
 (1) Curd firmness (E) measured 30 min after the beginning of rennet-coagulation.  
 (2) Consistenza del coagulo come indicato in tabella 1.  
 (2) Curd firmness, as indicated in table 1.

Tabella 6 - Caseina e consistenza del coagulo E<sub>30</sub> (1): coefficienti di correlazione (65 GL).  
 Table 6 - Milk casein and curd firmness, E<sub>30</sub> (1): correlation coefficients (65 degrees of freedom).

Variabili (2) Variables (2)			Coefficienti Coefficients		Variabili (2) Variables (2)			Coefficienti Coefficients	
a <sub>30</sub>	vs	r	- 0.87	****	a <sub>30</sub>	vs	casein	0.15	NS
a <sub>45</sub>	vs	r	- 0.65	****	a <sub>45</sub>	vs	casein	0.31	*
E <sub>30</sub> (1)	vs	r	- 0.39	**	E <sub>30</sub> (1)	vs	casein	0.44	***
a <sub>1/2r</sub>	vs	r	0.01	NS	a <sub>1/2r</sub>	vs	casein	0.57	****

(1) Consistenza del coagulo (E) misurata a 30 min dall'inizio della coagulazione.  
 (1) Curd firmness (E) measured 30 min after the beginning of rennet-coagulation.  
 (2) Consistenza del coagulo come indicato in tabella 1.  
 (2) Curd firmness, as indicated in table 1.  
 NS, P>0.05; \* P≤0.05; \*\* P≤0.01; \*\*\* P≤0.001; \*\*\*\* P≤0.0001

## Conclusioni

Tra i diversi parametri lattodinamometrici che si utilizzano per misurare la consistenza del coagulo, il parametro a<sub>1/2r</sub>, svincolato dal tempo di coagulazione, permette di apprezzare meglio la effettiva relazione che intercorre tra il contenuto in caseina del latte e la consistenza del coagulo. Il parametro a<sub>30</sub> appare, invece, il meno adatto, in quanto i suoi valori risultano fortemente correlati, in maniera negativa, con il tempo di coagulazione del latte. Anche il parametro E<sub>30</sub>, in gran parte svincolato dal tempo di coagulazione, esprime un buon grado di associazione con il contenuto di caseina del latte.

Parole chiave: Latte di vacca, coagulazione presamica, parametri lattodinamometrici, contenuto caseina, correlazione caseina - consistenza coagulo.

Key words: Cow milk, rennet-coagulation, lactodynamometric parameters, casein content, milk casein - curd firmness relationships.

RIASSUNTO. E' stata studiata la correlazione tra il contenuto in caseina del latte e la consistenza del coagulo valutata secondo diversi criteri. Sono stati analizzati 314 campioni di latte individuale di altrettante vacche di razza Bruna. Mediante Formagraph sono stati determinati i seguenti parametri di coagulazione:  $r$  = tempo di coagulazione del latte;  $k_{20}$  = tempo di rassodamento del coagulo;  $a_{30}$  = consistenza del coagulo misurata a 30 min dall'aggiunta del caglio. E' stato rilevato anche il parametro  $a_{1/2r}$ , cioè la consistenza del coagulo (a) misurata a parità di tempo di coagulazione ( $1/2r$ ). Inoltre, su 67 campioni di latte individuale è stato rilevato anche il parametro  $E_{30}$ , cioè la consistenza del coagulo (E) misurata a 30 min dall'inizio della coagulazione. Sono stati calcolati i seguenti coefficienti di correlazione: +0.58 tra  $r$  e  $k_{20}$ , -0.80 tra  $k_{20}$  e  $a_{30}$ , -0.89 tra  $r$  e  $a_{30}$  (tutti significativi per  $P < 0.0001$ ) e +0.04 tra  $r$  e  $a_{1/2r}$  ( $P > 0.05$ ). La consistenza del coagulo  $a_{30}$  - vincolata al tempo di coagulazione - risulta soltanto moderatamente correlata con il contenuto in caseina del latte (+0.12;  $P < 0.05$ ). Per contro, la consistenza del coagulo  $a_{1/2r}$  - svincolata dal tempo di coagulazione - risulta strettamente correlata con il contenuto in caseina del latte (+0.75;  $P < 0.0001$ ). Anche il parametro  $E_{30}$  mostra un buon grado di associazione con il contenuto in caseina del latte.

SUMMARY. *Relation between the firmness of rennet curd - evaluated by Formagraph - and the casein content of milk.* The correlation between curd firmness and milk casein content was studied. 314 individual milk samples from Italian Brown cows were analysed. By means of Formagraph the following parameters were determined:  $r$  = clotting time,  $k_{20}$  = curd firming time and  $a_{30}$  = curd firmness measured 30 min after rennet addition. Besides was surveyed also the curd firmness (a) measured at the same clotting time ( $1/2r$ ), named  $a_{1/2r}$ . Furthermore, on 67 individual milk samples  $E_{30}$  parameter too was determined, that means the curd firmness (E) measured 30 min after the beginning of the clotting. The following correlation coefficients were calculated: +0.58 between  $r$  and  $k_{20}$ , -0.80 between  $k_{20}$  and  $a_{30}$ , -0.89 between  $r$  and  $a_{30}$  (all significant for  $P < 0.0001$ ) and +0.04 between  $r$  and  $a_{1/2r}$  ( $P > 0.05$ ). The curd firmness  $a_{30}$  - "linked" to the clotting time - results only slightly correlated to the milk casein content (+0.12;  $P < 0.05$ ). On the contrary, the curd firmness  $a_{1/2r}$  - independent from the clotting time - results strictly correlated to the milk casein content (+0.75;  $P < 0.0001$ ). The  $E_{30}$  parameter too shows a good degree of association with the milk casein content.

## BIBLIOGRAFIA

1. RESMINI P. (1972). Caratteristiche del latte ed attitudine alla coagulazione presamica in relazione alla produzione di formaggi a pasta cotta. Sci. Tecnol. Alimenti, 2, 383-384.
2. 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. Age, Reggio Emilia, pp.129-145.
3. FRENTZ R. (1965). Application de la thrombélélastographie de Hartert à l'étude de la coagulation du lait. Le Lait, 45, 489-508.
4. THOMASOW J. (1968). <<The Hellige thrombelastograph in studies of rennet coagulum>>. Milchwissenschaft, 23, 725-731.
5. TARODO DE LA FUENTE B., ALAIS C., FRENTZ R.. (1969). Étude de la coagulation du lait par la présure et de synérèse du coagulum par la méthode thrombélélastographique. Le Lait, 49, 400-416.
6. RESMINI P. (1971). Struttura della micella caseinica e fenomeni connessi alla coagulazione presamica, con riferimento alla lavorazione del Parmigiano-Reggiano. Atti Corso Aggiornamento Tecnico Produzione Parmigiano-Reggiano, Ed. Age, Reggio Emilia, pp.81-113.
7. ANNIBALDI S., FERRI G., MORA R. (1977). Nuovi orientamenti nella valutazione tecnica del latte: tipizzazione lattodinamografica. Sci. Tecn. Latt.-cas., 28, 115-126.
8. PROKOPEK D. (1978). <<Determination of the firmness of coagulum in cheese manufacture>>. Deutsche Milchwirtschaft, 29, 534, 536-38, 540, 543.
9. MARIANI P., PECORARI M., FOSSA E., FIENI S. (1981). Diffusione del latte a coagulazione anomala e rapporti con il contenuto cellulare e l'acidità titolabile. Sci. Tecn. Latt.-cas., 32, 222-236.
10. DAVOLI R., DALL'OLIO S., NANNI M., RUSSO V. (1986). Correlazione tra parametri lattodinamometrici, acidità e composizione del latte. Atti S.I.S.Vet., 40, 558-561.
11. MICARI P., CHIOFALO V., ZUMBO A., CHIOFALO L. (1988). Caratteristiche di coagulazione del latte di bovine di razza Modicana nell'ultima fase di lattazione. Atti S.I.S.Vet., 42, 581-584.
12. MATASSINO D., GRASSO F., ZULLO A., GIORGIO G., SALATI-IANNITTI E. (1991). Alcuni fattori influenzanti l'attitudine alla casificazione del latte di bufala. Prod. Anim., 4(3<sup>a</sup>s.), 1-25.
13. MARIANI P. (1989). Attitudine del latte alla coagulazione presamica: ruolo dell'acidità nella produzione dei formaggi a lunga maturazione. Obiettivi Doc. Vet., 10(2), 13-22.
14. HOSSAIN M.A. (1976). <<The influence of protein fractions on the coagulation of milk and firmness of the curd>>. Kieler Milchw. Forschung., 28, 43-58.
15. MARIANI P., PECORARI M., FOSSA E. (1982). Le caratteristiche di coagulazione del latte in rapporto allo stadio della lattazione ed ai livelli di produzione. Sci. Tecn. Latt.-cas., 33, 409-425.
16. OKIGBO L.M., RICHARDSON G.H., BROWN R.J., ERNSTROM C.A. (1985). Variation in coagulation properties of milk from individual cows. J. Dairy Sci., 68, 822-828.
17. BONATO P., DISEGNA L., SPOLAOR D. (1987). Effetto di razza e ambiente sulle caratteristiche chimiche e reologiche dei latti. Sci. Tecn. Latt.-cas., 38, 327-343.
18. MARTIN B., COULON J.B. (1995). Facteurs de production du lait et caractéristiques des fromages. I. Influence des facteurs de production sur l'aptitude à la coagulation des laits de troupeaux. Lait, 75, 61-80.
19. MATASSINO D., BARONE C.M.A., GRASSO F., PALAZZO M., ZULLO A. (1995). Valutazione dell'attitudine alla caseificazione del latte nel bovino podolico. Atti ASPA, 11, 349-350.
20. McMAHON D.J., BROWN R.J. (1982). Evaluation of Formagraph for comparing rennet solutions. J. Dairy Sci., 65, 1639-1642.
21. ZANNONI M., MONGARDI M., ANNIBALDI S. (1981). Standardization of the renneting ability of milk by Formagraph. Note 2. Data processing. Sci. Tecn. Latt.-cas., 32, 153-164.
22. ASCHAFFENBURG R., DREWRY J. (1959). New procedure for the routine determination of the various non-casein proteins of milk. XV<sup>th</sup> Int. Dairy Congr., 3, 1631-1637.
23. SAVINI E. (1946). Analisi del latte e dei latticini, Ed. Hoepli, Milano.
24. SCHMIDT MADSEN P. (1975). Fluoro-opto-electronic cell-counting on milk. J. Dairy Res., 42, 227-239.
25. STATGRAPHICS (1993). Statistical graphic system by statistical graphics corporation. Ref. manual; version 7 for DOS., Manugistic Inc., Rockville, MD, USA.

# CALCIUM, PHOSPHORUS AND MAGNESIUM IN THE MILK OF NURSING MARES FROM ITALIAN SADDLE HORSE BREED AND THEIR VARIATIONS DURING LACTATION\*

F. Martuzzi, A.L. Catalano, A. Summer, P. Mariani

Istituto di Zootecnica, Alimentazione e Nutrizione, Università degli Studi, via del Taglio 8 - 43100 Parma

\* Contributed paper at the 48th Annual Meeting of EAAP, Wien, 25-28 August 1997  
This work was supported by MURST 60%

## Introduction

The foal in the first two months of his life shows a particularly high growth rate (Doreau, 1994). The milk, in this critical period, especially during the first month, is the main feed of the foal, the source of all nutrients (Doreau *et al.*, 1986; Martin *et al.*, 1992). Mineral metabolism, particularly calcium and phosphorus metabolism, is of basic importance relating to the impressive skeletal development of the animal (N.R.C., 1989; Thatcher, 1991; Wolter, 1996).

The mineral composition of mare milk was studied by several Researchers (see reviews: Neuhaus, 1959; Doreau & Boulot, 1989). Regarding Ca and P contents the observed values appear quite variable, particularly that related to the P content. To a great extent, the variations are linked to the lactation stage (Neseni *et al.*, 1958; Ullrey *et al.*, 1966; Schryver *et al.*, 1986; Smolders *et al.*, 1990; Mariani *et al.*, 1993). Nevertheless remarkable differences are noticed even in equal lactation stage (Ullrey *et al.*, 1966; Schryver *et al.*, 1986).

Beside the cited Authors (Neseni *et al.*, 1958; Ullrey *et al.*, 1966; Schryver *et al.*, 1986; Smolders *et al.*, 1990; Mariani *et al.*, 1993), several other Authors studied Ca and P contents in the mare milk (Holmes *et al.*, 1947; Baucus *et al.*, 1989; Doreau *et al.*, 1990; Doreau *et al.*, 1992; Orlandi *et al.*, 1992; Csapò-Kiss *et al.*, 1995). Some of them with specific reference to the saddle breeds (Bouwman & Van der Schee, 1978; Miraglia *et al.*, 1987; Smolders *et al.*, 1990; Mariani *et al.*, 1993).

Aim of this research was to study the basic mineral composition of the milk of nursing mares of the Italian Saddle Horse breed, as well as to consider its variations throughout the main phases of the lactation cycle.

## Materials and methods

The study was carried out on milk samples of 21 nursing mares of the Italian Saddle Horse breed, reared in 8 different studs in Parma, Piacenza and Cremona provinces (North Italy). The mares, averaging 500-600 kg in body weight, aging from 3 to 20 years (1+14 parities) were fed with hay *ad libitum* and 4-5 kg of commercial concentrate with 16% crude protein on dry matter.

The milk sample was obtained by manual milking of one gland, while the foal was suckling the other. In the 2 hours before the milking, the foal was prevented from suckling by a muzzle. Altogether, 54 individual milk samples were analyzed: 50 samples were collected between the 3<sup>rd</sup> and the 120<sup>th</sup> day of lactation, while 4 samples were taken from as many mares at drying-off (166+196 d *post partum*) by injection of 20 IU of oxytocin.

Ash was determined in muffle at 530°C (Savini, 1946), Ca and Mg by atomic absorption spectrometry (Anon., 1982) and P by colorimetry (Allen, 1940). Statistical significance of the differences among the observed mean values was tested by ANOVA.

## Results and discussion

In the table 1 the mean values of ash, Ca, P and Mg are reported. The ash content varies from 0.31 to 0.70 g per 100 g of milk. The mean value, equal to 0.467 g, is comparable to the values observed for the milk of other saddle breeds (Bouwman & Van der Schee, 1978) or similar breeds (Ullrey *et al.*, 1966; Schryver *et al.*, 1986; Martin *et al.*, 1992). Ca, P and Mg contents result 106.5 mg, 63.5 mg and 7.6 mg per 100 g of milk respectively. All three elements show high variability. Ca varies from 66 to 167 mg and P from 31 to 118 mg. Ca:P ratio results equal to 1.68 (*min.* 1.15; *max.* 2.25).

Table 1 - Mineral composition of milk from Italian Saddle mares (g or mg per 100 g of milk).

	Ash (g)	Ca (mg)	P (mg)	Mg (mg)	Ca : P
Observ. no.	54	54	54	54	54
Mean value <sup>1</sup>	0.467	106.5	63.5	7.6	1.68
Standard error	0.013	3.5	2.4	0.3	0.03
Coeff. of variation	20.46	24.17	27.23	31.00	13.49
<i>Minimum</i>	0.31	66	31	3	1.15
<i>Maximum</i>	0.70	167	118	13	2.25

<sup>1</sup> Referred to 54 individual milk samples collected from 21 nursing mares

In the table 2 the observed values are compared to those reported from other Authors, referring to the first lactation month. The mean value of Ca content is comparable to those found in the milk of Dutch Saddle mares (Bouwman & Van der Schee, 1978; Smolders *et al.*, 1990) and similar breeds, like Thoroughbred, Arabian and Quarter Horse (Ullrey *et al.*, 1966; Schryver *et al.*, 1986). Recently Cauvin *et al.* (1997) in the milk of Italian Saddle mares found 123 mg of Ca per 100 ml. P content values result according to that of Dutch Saddle breed (Bouwman & Van Der Schee, 1978; Smolders *et al.*, 1990), as well as to that of Thoroughbred (Schryver *et al.*, 1986); while the values found by Ullrey *et al.* (1966) for Arabian and Quarter Horse appear definitely lower. The Mg data too are according enough to those found in the milk of some breeds comparable to the saddle breeds (Ullrey *et al.*, 1966; Schryver *et al.* 1986; Baucus *et al.*, 1989).

Table 2 - Comparison of reported values for mineral content of mare milk (g or mg per 100 g of milk)

Breeds	Mares n°	Lactation period	Ash (g)	Ca P Mg (mg)			Ca:P	Authors
				Ca	P	Mg		
- Italian Saddle Horse	21	3 + 30 d	0.54	127	77	9	1.66	This study
- Dutch Warmblooded Saddle Horse	5	1 + 4 wk	0.48	124	78	—	1.59	Bouwman & Van der Schee, 1978
- Dutch Saddle Horse	12	3 + 28 d	—	131	77	—	1.70	Smolders <i>et al.</i> , 1990
- Quarter Horse, Arabian	10	5 + 35 d	0.51	121	40	8	3.02	Ullrey <i>et al.</i> , 1966
- Thoroughbred	5	1 + 4 wk	0.53	122	80	10	1.53	Schryver <i>et al.</i> , 1986
- "Light" Horse	10	7 + 28 d	0.43	90	50	10	1.80	Baucus <i>et al.</i> , 1989
- Five breeds <sup>1</sup>	18	3 + 30 d	0.55	112	81	—	1.38	Neseni <i>et al.</i> , 1958
- Breton, Comtois	10	7 + 28 d	—	144	53	—	2.72	Doreau <i>et al.</i> , 1992
- Breton, Comtois	11	7 e 28 d	—	126	44	—	2.86	Doreau <i>et al.</i> , 1990
- Four breeds <sup>2</sup>	29	3 + 5 d	0.53	95	64	9	1.41	Csapó-Kiss <i>et al.</i> , 1995
		8 + 45 d	0.41	82	50	7	1.64	

<sup>1</sup>Cold Blooded Horse, Hannoverian Warmblooded Horse, East Prussian Warmblooded Horse, Arabian Horse, Shetland Pony.

<sup>2</sup>Hungarian Draught, Haflinger, Breton, Boulonnais.

The mineral composition of the milk of the first 120 lactation days is shown in table 3. In the same table are reported the values of the milk taken at drying-off referring to 4 mares. Significant variations are observed. The milk produced from the 3<sup>rd</sup> to the 15<sup>th</sup> day of lactation results clearly richer of ash (0.601 g), Ca (135.5 mg), P (87.5 mg) and Mg (10 mg) than that produced in the following phases of the productive cycle. The milk at the beginning of the lactation results quite provided with P (Ca:P = 1.55); the values of the Ca:P ratio tend to increase throughout lactation, even though not significantly. The milk produced during the 2<sup>nd</sup> lactation month contains 25% less Ca and 30% less P. The milk of the 4<sup>th</sup> month contains 45% less Ca and 49% less P, always comparing to the first 2 weeks *post partum*. The milk of the last milking, taken at drying-off, results the poorest both in Ca (68.5 mg) and in P (35.7 mg).

Table 3 - Variations of the mineral composition of milk from 21 Italian Saddle Horse mares in relation to lactation period (g or mg per 100 g of milk).

Observ. no.		Lactation period (d) and (drying-off)						[P]
		3+15	16+30	31+60	61+90	91+120	(166+196)	
Ash	g	1 0.601 e	0.495 d	0.450 c	0.410 bc	0.342 a	0.370 ab	***
		2 0.020	0.017	0.014	0.017	0.015	0.024	
Ca	mg	1 135.5 e	121.1 d	101.7 c	92.9 bc	74.8 ab	68.5 a	***
		2 5.4	5.1	3.9	5.4	4.2	1.0	
P	mg	1 87.5 e	68.5 d	60.9 c	54.6 bc	44.6 ab	35.7 a	***
		2 5.1	2.4	2.0	1.2	2.4	2.0	
Mg	mg	1 10.0 d	8.7 d	7.2 c	6.4 bc	5.4 ab	4.0 a	***
		2 0.8	0.4	0.5	0.4	0.2	0.4	
Ca:P	—	1 1.55	1.77	1.67	1.70	1.68	1.92	NS
		2 0.09	0.05	0.05	0.08	0.15	0.11	

<sup>1</sup>Mean value; <sup>2</sup>Standard error; a, b, c, d, e: P<0.05; NS: P>0.05; \*\*\*P<0.001

The variations related to the lactation stage are according with those observed by other Authors for saddle breeds (Smolders *et al.*, 1990; Mariani *et al.*, 1993), for saddle-like breeds (Ullrey *et al.*, 1966; Schryver *et al.*, 1986), as well as for other breeds (Neseni *et al.*, 1958; Doreau *et al.*, 1990; Doreau *et al.*, 1992; Csapó-Kiss *et al.*, 1995). Nevertheless, there are partially contrasting observations (Holmes *et al.*, 1947; Bouwman & Van der Schee, 1978; Baucus *et al.*, 1989).

In table 4 individual variability in the mineral composition is shown, limited to the milk produced by 5 nursing mares. Ca content varies to a great extent (from 83 mg of the mare 2 to 118.7 mg of the mare 3). P variability results important too (from 56.7 to 71 mg). Ca:P ratio values move from 1.38 to 1.86.

Table 4 - Mineral composition of milk collected during the lactation from 5 Italian Saddle Horse mares (g or mg per 100 g of milk).

Mares →		1	2	3	4	5	[P]
Observ.	no.	6	6	6	6	4	—
Days in milk	d	55.7	53.8	54.0	53.8	54.5	—
Age of mare	yr	9	19	12	13	8	—
Ash	g	1 0.492	0.400	0.508	0.447	0.458	NS
		2 0.038	0.039	0.057	0.052	0.027	
Ca	mg	1 113.2 b	83.0 a	118.7 b	97.8 ab	105.5 ab	*
		2 9.1	7.3	15.2	9.9	5.2	
P	mg	1 62.5	60.0	71.0	68.2	56.7	NS
		2 8.2	8.6	9.2	10.5	2.2	
Mg	mg	1 8.2	7.8	8.5	8.0	8.3	NS
		2 0.8	0.9	1.0	1.2	0.8	
Ca:P	—	1 1.81 c	1.38 a	1.67 bc	1.43 ab	1.86 c	***
		2 0.10	0.07	0.06	0.07	0.02	

<sup>1</sup>Mean value; <sup>2</sup>Standard error; a, b, c: P≤0.05; NS; P>0.05; \* P=0.05; \*\*\* P≤0.001

## Conclusions

Ca content in the milk of Italian Saddle mares appears very similar to that of other saddle breeds or saddle-like breeds, as Thoroughbred, Quarter Horse and Arabian. P content tends to agree only with the values observed in other saddle breeds, while there are disagreements both with saddle-like breeds and other breeds, generically defined "light" or "heavy".

The milk produced in the first 2 weeks *post partum*, after the short colostral phase, results the richest of Ca and P in relation to the considerable mineral requirements of the young foal in strong weight growth. In this stage the value of Ca:P ratio tends to be lower than in the following phases. Also the milk of the second half of the first lactation month appears fairly provided of Ca (a little less of P). Afterwards the mineral supply of the milk decreases considerably. Due to the remarkable individual variability (i.e. for the Ca) we think that the knowledge of milk composition can be useful for right foal feeding, particularly in the first and in the second month of his life.

Keywords: Italian Saddle Horse, nursing mare, lactation stage, milk composition, mineral content.

Parole chiave: Cavallo Sella Italiano, giumenta, stadio lattazione, composizione latte, contenuto minerale.

SUMMARY. -The mineral composition of the milk of Italian Saddle mares was studied. 54 individual milk samples from 21 nursing mares were analyzed. 50 samples were collected from the 3rd to the 120<sup>th</sup> day of lactation, and 4 were taken at drying-off (166-196 d). Milk was obtained through complete hand milking of one gland. The mares, ranging in weight 500-600 kg and in age 3-20 years (1-14 parities) were fed with hay *ad libitum* and 4-5 kg of concentrate. Ash was determined in muffle at 530°C. Ca and Mg by atomic absorption spectrometry and P by colorimetry. Data were analyzed by means of ANOVA. The following mean values were observed (±SE) per 100 g of milk: ash 0.467±0.013 g; Ca 106.5±3.5 mg; P 63.5±2.4 mg; Mg 7.6±0.3 mg. The milk produced from the 91<sup>st</sup> to the 120<sup>th</sup> day of lactation contains less Ca (74.8±4.2 mg) and less P (44.6±2.4 mg) compared to the milk produced from the 3<sup>rd</sup> to the 15<sup>th</sup> day of lactation (Ca 135.5±5.4 mg; P 87.5±5.1 mg). The milk collected at drying-off appears poor in Ca (68.5±1 mg) and in P (35.7±2 mg). Also the Ca:P ratio modifies, varying from 1.55±0.09 (beginning of lactation) to 1.92±0.11 (at drying-off).

RIASSUNTO. *Contenuti di calcio, fosforo e magnesio nel latte di giumente di razza Cavallo Sella Italiano e variazioni durante la lattazione.* È stata studiata la composizione chimica del latte di giumente di razza Cavallo Sella Italiano. Sono stati analizzati 54 campioni di latte individuale prelevati da 21 cavalle nutrici allevate presso 8 scuderie del nord Italia. 50 campioni sono stati raccolti tra il 3° ed il 120° giorno di lattazione, mentre 4 sono stati prelevati in corrispondenza della messa in asciutta (166-196 d) di altrettante cavalle. Il latte è stato ottenuto mediante la mungitura manuale completa di una mammella in presenza del puledro, cui è stata impedita la suzione per 2 ore mediante l'applicazione di museruola. Le cavalle, di 500-600 kg di peso vivo, di età compresa tra i 3 ed i 20 anni (1-14 parti), erano alimentate con fieno polfito *ad libitum* e 4-5 kg di concentrato al 16% di proteina grezza sul secco. Le ceneri sono state determinate in muffola a 530° C, il Ca ed il Mg mediante spettrofotometria in assorbimento atomico ed il P per via colorimetrica. Sono stati osservati i seguenti valori medi (±ES) per 100 g di latte : 0.467±0.013 g di ceneri, 106.5±3.5 mg di Ca, 63.5±2.4 mg di P e 7.6±0.3 mg di Mg. I valori si modificano profondamente nel corso della lattazione (P<0.001). Il latte prodotto dal 91° al 120° giorno di lattazione contiene meno calcio (74.8±4.2 mg) e meno P (44.6±2.4 mg) rispetto a quello prodotto dal 3° al 15° giorno di lattazione : 135.5±5.4 mg di Ca e 87.5±5.1 mg di P. Il latte prelevato in corrispondenza della messa in asciutta risulta povero sia di Ca (68.5±1 mg) sia di P (35.7±2 mg). Si modifica anche il rapporto Ca:P che varia tra 1.55±0.09 (inizio lattazione) e 1.92±0.11 (messa in asciutta).

## REFERENCES

- Allen R.J.L., 1940. The estimation of phosphorus. *Biochem. J.*, 34, 858-865.
- Anon., 1982. Analytical methods for atomic absorption spectrophotometry. Bodenseewerk Perkin-Elmer & Co GmbH, Überlingen, Germany.
- Baucus K.L., Ralston S.L., Rich G.A., Squires E.L., 1989. The effect of copper and zinc supplementation on mineral content of mares' milk. *J. Equine Vet. Sci.*, 9 (4), 206-209.
- Bowman H., Van der Schee W., 1978. Composition and production of milk from Dutch warmblooded saddle horse mares. *Z. Tierphysiol. Tierernähr. Futtermittelkde.*, 40, 39-53.
- Cauvin E., Sacchi P., Bergero D., Turi R.M., 1997. Caratteristiche compositive e livelli di immunoglobuline del colostro e del latte di cavalla. *Riv. SIDI*, 3 (1), 17-22.
- Csapó-Kiss Zs., Stefler J., Martin T.G., Makray S., Csapó J., 1995. Composition of mares' colostrum and milk: protein content, amino acid composition and contents of macro- and micro- elements. *Int. Dairy J.*, 5, 403-415.
- Doreau M., 1994. Le lait de jument et sa production: particularités et facteurs de variation. *Lait*, 74, 401-418.
- Doreau M., Boulot S., 1989. Recent knowledge on mare milk production: a review. *Livest. Prod. Sci.*, 22, 213-235.
- Doreau M., Boulot S., Martin-Rosset W., Robelin J., 1986. Relationship between nutrient intake, growth and body composition of the nursing foal. *Reprod. Nutr. Dévelop.*, 26 (2B), 683-690.
- Doreau M., Boulot S., Barlet J-P., Patureau-Mirand P., 1990. Yield and composition of milk from lactating mares: effect of lactation stage and individual differences. *J. Dairy Res.*, 57, 449-454.
- Doreau M., Boulot S., Bauchart D., Barlet J-P., Martin-Rosset W., 1992. Voluntary intake, milk production and plasma metabolites in nursing mares fed two different diets. *J. Nutr.*, 122, 992-999.
- Holmes A.D., Spelman A.F., Smith C.T., Kuzmeski J.W., 1947. Composition of mare's milk as compared with other species. *J. Dairy Sci.*, 30, 385-395.
- Mariani P., Martuzzi F., Catalano A.L., 1993. Composizione e proprietà fisico-chimiche del latte di cavalla: variazione dei costituenti azotati e minerali nel corso della lattazione. *Ann. Fac. Med. Vet., Univ. Parma*, 13, 43-58.
- Martin R.G., McMeniman N.P., Dowsett K.F., 1992. Milk and water intakes of foals sucking grazing mares. *Equine Vet. J.*, 24, 295-299.
- Miraglia N., Quintavalla F., Catalano A.L., Mariani P., 1987. Modificazioni ematochimiche nella lattatrice e nel puledro in rapporto agli aspetti nutrizionali: nota preliminare. *Obiettivi Doc. Vet.*, 8 (11), 63-66.
- Neseni R., Flade E., Heidler G., Steger H., 1958. Yield and composition of mare's milk in the course of lactation. *Arch. Tierzucht.*, 1, 91-129.

- Neuhaus U., 1959. Milk and milking of mares. Z. Tierzücht. ZüchtBiol., 73, 370-392.
- N.R.C., National Research Council, 1989. Nutrient requirements of horses. National Academy Press, Washington D.C., USA, 100.
- Orlandi M., Colombani B., Gatta D., Liponi G.B., Campodoni G., 1992. Evoluzione della composizione chimica del colostro di cavalla: nota preliminare. Atti Soc. Ital. Sci. Vet., 46, 1679-1683.
- Savini E., 1946. Analisi del latte e dei latticini. Ed. Hoepli, Milano, 1072.
- Schryver H.F., Oftedal O.T., Williams J., Soderholm L.V., Hintz H.F., 1986. Lactation in the horse: the mineral composition of mare milk. J. Nutr., 116, 2142-2147.
- Smolders E.A.A., Van der Veen N.G., Van Polanen A., 1990. Composition of horse milk during the suckling period. Livest. Prod. Sci., 25, 163-171.
- Thatcher C.D., 1991. Nutritional aspects of developmental orthopedic disease in growing horses. Veterinary Medicine, 7, 743-747.
- Ullrey D.E., Struthers R.D., Hendricks D.G. & Brent B.E. 1966. Composition of mare's milk. J. Anim. Sci., 25, 217-222.
- Wolter R., 1996. Osteocondrosi e alimentazione nel cavallo. Riv. SIDI, 2 (2), 27-32.

# GRASSI, COLESTEROLO E FENOMENI OSSIDATIVI: RELAZIONI CON LA SALUTE DEL CONSUMATORE E LA QUALITÀ DEI PRODOTTI CARNEI

Chizzolini R., Novelli E., Zanardi E.

*Istituto di Scienza e Tecnologia degli Alimenti, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Parma*

Ricerca eseguita con il contributo finanziario del Ministero della Università e della Ricerca Scientifica. Progetto Nazionale: Qualità delle produzioni zootecniche (1995-1996).

## Introduzione

Il rapporto tra malattie cardiovascolari e grassi alimentari è probabilmente uno degli argomenti più noti anche al grande pubblico. Organismi nazionali e internazionali hanno ripetutamente pubblicato nel corso degli ultimi 40 anni indicazioni e suggerimenti per una alimentazione in cui il consumo di grassi sia limitato come quantità di calorie e di acidi grassi saturi. Le linee guida per una corretta alimentazione prevedono, in particolare, un apporto di grassi che copra il 15-30% delle calorie totali, di cui non più di un terzo proveniente da grassi saturi. Anche per il colesterolo di origine alimentare si suggerisce di limitarne l'apporto entro i 300mg al giorno (I.N.N., 1997; WHO, 1990).

Limitare la quantità di grassi e di colesterolo nella dieta è considerato importante ai fini della prevenzione della obesità e della ipercolesterolemia, di cui è stata dimostrata la connessione con alcune patologie croniche del sistema cardiocircolatorio. Sembra che esistano delle relazioni anche tra elevato consumo di grassi e un aumento del rischio di alcuni tumori, in particolare i tumori del colon, della mammella e della prostata (Reddy, 1995).

Le ricerche condotte negli ultimi anni hanno aggiunto un ulteriore fattore di rischio. I fenomeni di ossidazione cui possono andare incontro i grassi durante la conservazione e la lavorazione sarebbero in grado di produrre molecole dotate di elevata tossicità e coinvolte in vari processi morbosi tra i quali l'aterosclerosi, l'invecchiamento e la cataratta.

I processi ossidativi sono importanti anche nel contesto delle caratteristiche di qualità degli alimenti. L'ossidazione dei grassi da origine a prodotti che alterano alcune caratteristiche organolettiche (rancidità) ma anche molecole importanti nel determinismo del sapore e dell'aroma caratteristico di alcuni prodotti. L'ossidazione dei composti responsabili del colore porta in generale allo scadimento dello stesso e il fenomeno viene empiricamente utilizzato dal consumatore per giudicare lo stato di freschezza degli alimenti.

La carne e i prodotti carnei sono stati e sono tuttora coinvolti nelle problematiche sopra accennate e, in particolare, da tempo tali alimenti sono accusati di contenere troppi grassi, troppi grassi saturi e troppo colesterolo. Alcuni processi di conservazione e lavorazione, inoltre, comportano il rischio di promuovere i fenomeni ossidativi.

## Grassi e Obesità

La relazione tra grassi introdotti con l'alimentazione e peso corporeo, in condizioni di normalità, è chiaramente illustrata dal seguente esempio (Flatt, 1993).

La composizione della dieta giornaliera nei paesi ricchi è approssimativamente costituita da 100g di proteine, 100g di grassi e 300g di carboidrati, per un apporto totale di circa 2500 calorie distribuite tra le tre componenti appena menzionate nella misura, rispettivamente, del 16%, 36% e 48%. Una persona adulta è composta da circa 10-12kg di proteine, 300-400g di carboidrati e 10-20kg di grasso. I carboidrati introdotti con gli alimenti in un giorno corrispondono, quindi, alle riserve glucidiche organiche mentre le proteine e i grassi rappresentano solamente circa l'1%.

Il contenuto proteico dell'organismo viene mantenuto costante poichè non esiste un sistema di riserva proteica e le proteine (o gli amino acidi) introdotte in eccesso rispetto al ricambio normale entrano nelle vie metaboliche dei grassi e dei carboidrati.

Il glucosio viene immagazzinato come glicogeno, soprattutto nelle cellule del fegato e dei muscoli, in associazione, tuttavia, con tre molecole di acqua. Questo lo rende una forma di riserva energetica piuttosto ingombrante (1 kcal/g) che deve essere contenuta per evitare un rigonfiamento eccessivo delle cellule interessate. Un eccesso di carboidrati alimentari determina un aumento delle riserve di glicogeno e un aggiustamento del metabolismo verso l'utilizzo primario del glucosio come fonte energetica (Ackeson et al., 1984). Solo quando le riserve di glicogeno raggiungono il livello di oltre 8g/kg di peso corporeo (dai 4-6g/kg della normalità) si attivano le vie metaboliche di sintesi dei grassi dai carboidrati (Ackeson et al., 1988). In condizioni di normale alimentazione questo non avviene in quanto l'organismo dispone di meccanismi, dipendenti in particolare dalla glicemia, che arrestano l'introduzione di alimenti tramite una sensazione di sazietà. Nella situazione inversa, la carenza glicemica produce lo stimolo all'assunzione di alimenti (Ackeson et al., 1984, 1988; Hellerstein et al., 1991).

I lipidi sono immagazzinati all'interno delle cellule adipose in quasi totale assenza di acqua come dimostra il fatto che il tessuto adiposo è costituito per il 90% da grassi. Questo fa sì che il tessuto adiposo rappresenti una forma di energia molto più concentrata (8 kcal/g) del glicogeno e costituisca una riserva energetica più adatta per le lunghe scadenze. Variazioni anche consistenti nell'apporto giornaliero di grassi non hanno effetti percepibili nell'immediato dato il rapporto di circa 1 a 100 tra grassi della dieta e grassi di deposito. In particolare, non vi sono nel caso dei grassi quei meccanismi legati alla glicemia che determinano il senso di sazietà per cui il contenuto di grassi della dieta può avere effetti significativi sul livello dei depositi adiposi e, quindi, sul peso corporeo. A questo aggiungasi che, nel caso i carboidrati introdotti siano in eccesso rispetto ai fabbisogni, l'organismo è portato ad utilizzare prevalentemente i glucidi il che comporta una maggiore deposizione di grasso (Flatt, 1991).

In termini metabolici il controllo del peso corporeo richiede un equilibrio tra l'energia introdotta e quella consumata. L'obiettivo viene raggiunto più facilmente controllando la quantità di grassi della dieta perchè l'organismo non dispone di sistemi omeostatici per i grassi depositati come invece avviene per le proteine e i carboidrati. La prevenzione del sovrappeso, di cui

l'obesità è la forma più grave, richiede in primo luogo il contenimento delle calorie totali entro i limiti delle necessità quotidiane e, in secondo luogo, la riduzione dei grassi a vantaggio dei carboidrati che devono costituire la fonte prevalente di energia.

L'approccio dietetico al problema della obesità, basato sulla indicazione che i grassi non dovrebbero fornire più del 30% delle calorie totali, non è sufficiente a prevenire il sovrappeso negli individui con predisposizione genetica per l'obesità. Esistono infatti variazioni geneticamente indotte dei meccanismi di regolazione della ossidazione e del deposito dei glucidi e dei grassi che possono avere effetti considerevoli sul peso corporeo (Bouchard et al., 1988). Nei topi è stato individuato quello che è ritenuto il gene della obesità, denominato *ob* (Zhang et al., 1994) e si ritiene che un simile gene esista anche nell'uomo. Tale gene è preposto alla produzione da parte delle cellule adipose di una proteina denominata "leptina" che avrebbe il compito specifico di informare un centro nervoso ipotalamico sullo stato della massa adiposa. L'opinione corrente considera l'obesità un problema a base multifattoriale in cui intervengono fattori genetici, sotto forma di geni di suscettibilità, e interazioni gene-ambiente. Gli alleli coinvolti avrebbero la funzione di aumentare il rischio ma di per sé stessi non sarebbero in grado di determinarla (Foreyt e Carlos Poston, 1997).

## Colesterolo ematico e alimentazione

I grassi alimentari hanno importanti relazioni anche con i livelli ematici di colesterolo. Ricerche risalenti ai primi anni '50 hanno dimostrato che gli acidi grassi saturi di origine alimentare aumentano il colesterolo plasmatico mentre i polinsaturi lo diminuiscono (Kritchevsky et al., 1954, 1956). Da allora numerosissime ricerche hanno avuto per oggetto il rapporto o l'effetto degli acidi grassi, considerati come gruppi di saturazione (saturi, monoinsaturi e polinsaturi) o come composti individuali, su parametri ematici quali la lipidemia e la colesterolemia. Indipendentemente dalla composizione in acidi grassi, studi di tipo epidemiologico e clinico hanno messo in relazione diete ad alto contenuto di grasso con condizioni di elevate concentrazioni di colesterolo nel sangue (Hegsted et al., 1965; Consensus Conference, 1985; Vergroesen and Crawford, 1989). Studi recenti, tuttavia, non sembrano condividere tale impostazione. I livelli di colesterolo nel sangue sembra dipendano dalle concentrazioni relative (rapporti interni) degli acidi grassi nella dieta più che dalla quantità di calorie fornite dai grassi, siano essi saturi o insaturi (Nelson et al., 1995). In particolare il colesterolo legato alle lipoproteine a bassa densità (LDL), quello maggiormente legato al rischio di malattie cardiovascolari, non sembra sia influenzato dalla percentuale di calorie derivante dai grassi.

La relazione tra grasso alimentare, colesterolo ematico e patologie croniche dell'uomo è piuttosto complessa come ha messo in evidenza Klurfeld (1994) ed è tuttora oggetto di studi e di pareri contrastanti.

Anche il colesterolo introdotto con l'alimentazione è stato messo in relazione ad un aumento della colesterolemia. Esistono, tuttavia, indagini risalenti a circa 40 anni or sono che escludono tale effetto. Keys (1956) ha studiato il rapporto tra colesterolo alimentare e colesterolo del sangue e ha ottenuto dei risultati che indicano come nell'uomo adulto, in condizioni di normalità, il colesterolo ematico sia indipendente dal colesterolo alimentare. Analoghi risultati sono stati ottenuti da Morris et al. (1963) e Kahn et al. (1969) anche con alimenti particolarmente ricchi di colesterolo. Anche Nichols et al. (1976) giunsero alla conclusione che il colesterolo ematico poteva variare dai livelli più alti a quelli più bassi indipendentemente dalle concentrazioni di colesterolo negli alimenti. Le ultime ricerche in proposito hanno confermato che il colesterolo alimentare ha effetti limitati sul valore del colesterolo ematico (Nelson et al., 1995).

Come per la obesità, questi risultati non escludono la presenza di predisposizioni genetiche verso livelli ematici elevati di colesterolo. Sembra infatti che il 50% della varianza nella concentrazione di colesterolo plasmatico sia di origine genetica (Williams, 1988). È stato dimostrato che più di 200 geni sono coinvolti nel controllo di enzimi, recettori, cofattori, elementi strutturali che controllano la pressione sanguigna, il metabolismo dei lipidi, e lipoproteine, i fattori che regolano l'infiammazione e la coagulazione.

Nel caso specifico del colesterolo plasmatico sembra che il controllo sia dovuto a varianti genetiche della apolipoproteina (Apo). In particolare la ApoE è stata ampiamente studiata e si sa che il gene ApoE è polimorfo e costituito da molti alleli su di un singolo locus genico. Esistono tre forme isomorfe comunemente presenti nelle popolazioni, forme indicate come ApoE2, ApoE3, ApoE4 di cui tre omozigote (E2/E2, E3/E3, E4/E4) e tre eterozigote (E4/E2, E4/E3, E3/E2). La forma ApoE3/E3 è la più comune ed è presente nel 60% della popolazione. Da questo si deduce che la ApoE3 è la forma originaria mentre la E2 e la E4 sono le varianti.

Gli studi di genetica delle popolazioni hanno dimostrato che l'allele E4 è associato con un aumento dei valori di colesterolo ematico mentre l'allele E2 ha effetto opposto. La frequenza relativa della E3 è inferiore al 79% nelle popolazioni Caucasiche (alto colesterolo) mentre è superiore all'84% nei Cinesi e nei Giapponesi (basso colesterolo). La E4 è significativamente più alta nei Finlandesi i quali hanno i valori di colesterolo plasmatico più alti ed il rischio di malattie cardiovascolari più alti. I Giapponesi hanno una bassa frequenza della E4/E4, minori livelli di colesterolo plasmatico e minore incidenza di morti per malattie cardiovascolari. Le persone con ApoE4/E4 assorbono in maggiore misura il colesterolo alimentare anche in diete a basso contenuto di grassi. Nel caso di diete ricche di acidi grassi saturi chi ha la ApoE4 presenta maggiori livelli di colesterolo plasmatico.

L'incidenza della ApoE4 nei Finlandesi è compresa tra il 22,7 e il 19,4% mentre nei Giapponesi è del 7,4-11,7%. Ad un riesame dei dati epidemiologici precedentemente interpretati solo su base alimentare, queste differenze spiegano le variazioni in contenuto di colesterolo plasmatico attribuite ai grassi saturi e al grasso totale della dieta (Simopoulos, 1997).

Ne deriva che linee guida dietetiche a valore universale non sono adatte per la prevenzione delle malattie croniche più o meno connesse con le abitudini alimentari. I piani dietetici dovrebbero essere personalizzati in funzione della predisposizione genetica e del tipo di vita (cioè, consumo di energia) condotto. È prevedibile, quindi, che nel prossimo futuro siano sviluppati prodotti alimentari mirati per la prevenzione e la gestione di alcune malattie croniche in funzione del tipo di popolazione e di personalità metabolica dell'individuo.

## Apporto calorico e colesterolo delle carni

La carne magra è costituita da tre componenti principali: acqua (75%), proteine (19%) e grasso (2,5%). Le componenti minori che rappresentano il rimanente 3,5% comprendono i carboidrati (circa 1%), composti azotati solubili, sostanze minerali e vitamine (Lawrie, 1991). I valori summenzionati possono variare in funzione di fattori di tipo endogeno (tipo di muscolo, razza, sesso, specie, ecc.) ed esogeno (piani alimentari, interventi farmacologici, ecc.). Nei prodotti a base di carne i tre componenti principali presentano variazioni

accentuate, specialmente nel caso degli insaccati.

Il contenuto molto limitato dei carboidrati fa sì che il loro apporto calorico possa essere considerato trascurabile. Le proteine, con un valore calorifico medio di 4 kcal/g, apportano circa 80 kcal/100g nella carne fresca. Nei prodotti a base di carne il contenuto proteico può variare dal 30% circa a meno del 15%, l'apporto calorico può, quindi, essere compreso tra 120 e meno di 60 kcal. Il contenuto di grasso può essere compreso tra un minimo di 1-2% e un massimo oltre il 30% in alcuni prodotti. L'apporto calorico (8 kcal/g) derivante da questa componente si distribuisce su un intervallo che va da una decina a oltre duecento calorie.

Una unità di riferimento di 100g di carne può fornire, quindi, da un minimo di circa un centinaio (Tab. 1) ad un massimo di oltre 300 calorie (Tab. 3). Tali valori vanno messi in relazione al peso relativo rappresentato dalla carne nella dieta dei paesi avanzati.

TABELLA 1. Composizione, colesterolo e valore calorico dei principali tipi di carne (adattata da Scherz e Senser, 1989)

TIPO DI CARNE	ACQUA %	PROTEINE %	GRASSI %	COLESTEROLO mg/100g	CALORIE KCAL/100g
OVINO	75.00	20.40	3.41	70.0	122
BOVINO	75.10	22.00	1.90	60.0	115
SUINO	74.70	22.00	1.86	65.0	114
POLLO	72.70	20.60	5.60	81.0	144
TACCHINO	63,50	20,20	15,00	74,0	231
OCA	52,40	15,70	31,00	86,0	364
LEPRE	73,30	21,60	3,01	65,0	124

I dati ufficiali relativi ai consumi di carne, anche in Italia, non esprimono i consumi reali ma la produzione vendibile degli animali da macello, principalmente carcasse, che comprendono anche ossa, organi interni, grassi di deposito che vengono eliminati prima della vendita e scarti di vario tipo. Ne risulta che la carne effettivamente utilizzata per la alimentazione rappresenta circa il 60-65% di tali valori (Honikel, 1992; Klurfeld, 1994). I consumi di carne nei paesi industrializzati, stimati tra i 70 e i 100kg/capite all'anno, si riducono, quindi, a 45-65 kg.

In Italia i consumi sono approssimativamente suddivisi in 25kg di carni suine, 21 di carni bovine, 19 di pollame e 14 di salumi, per un totale di 80 kg/capite per anno, ovvero 50-52kg di consumo reale (circa 140g/giorno). Il contenuto proteico medio si situa probabilmente tra il 17 e il 18% mentre quello di grassi si pone tra il 5 e il 10% nelle carni fresche e tra il 20 e il 30% in quelle trasformate (Honikel, 1992; Klurfeld, 1994). Le carni porterebbero in tal modo circa 25g di proteine al giorno (100 kcal) e circa 20-25g di grassi (160-200 kcal) per un totale apporto calorico che corrisponde al 10-12% di una dieta di 2500 calorie giornaliere.

Il colesterolo è un costituente essenziale delle cellule animali e tutti gli alimenti di origine animale lo contengono. La scoperta del nesso esistente tra colesterolo ematico e malattie cardiovascolari, e la possibilità, avanzata da alcuni, che il colesterolo alimentare abbia effetti sul livello di colesterolo nel sangue, ha stimolato le indagini volte a stabilire il contenuto di colesterolo nei vari tipi di carni. I dati più recenti sono raccolti nelle Tabelle 1 e 2 ove si possono osservare valori medi relativi alle principali specie di animali da carne e ai muscoli o tagli più importanti. Le variazioni tra i muscoli, le specie e i tipi di prodotti carnei sono state attribuite a fattori quali la specie, l'età, il sesso, la razza, il contenuto di grasso, ecc.. Gli studi effettuati in proposito hanno dimostrato, tuttavia, che le differenze talvolta riscontrate su base di razza, specie o sesso sono ridotte e trascurabili a fini dietetici (Feeley et al., 1972). Riscontri importanti sono, invece, quelli relativi alle differenze indotte dal tipo di muscolo e dal contenuto di grasso intramuscolare o di copertura.

Il tipo di muscolo ha un effetto importante sul contenuto di colesterolo. Infatti, le fibre muscolari rosse sono mediamente più piccole di quelle bianche con il risultato che a parità di volume i muscoli rossi hanno più fibre dei muscoli bianchi. Il colesterolo è un componente delle membrane e quindi i muscoli rossi hanno tendenzialmente un contenuto di colesterolo più alto dei muscoli bianchi. Un esempio tipico è costituito dai muscoli pettorali delle anatre rispetto ai muscoli pettorali dei broiler: i primi presentano un contenuto di fibre bianche di solo il 16%, rispetto al 100% dei secondi, mentre il contenuto di colesterolo è di 99,11mg/100g, rispetto a 47,41mg/100g nei secondi (Smith et al., 1993). Osservando alcuni dati contenuti in Tabella 2 l'effetto del contenuto di fibre rosse sembra essere evidente nel caso del cuore, della lingua e, di nuovo, dei muscoli pettorali di pollo, tacchino e anatra. Nel caso del pollo (Tab. 2) è pure evidente la differenza di contenuto di colesterolo tra il petto e l'arto posteriore, il secondo costituito da muscoli più rossi del primo.

TABELLA 2. Contenuto di grasso intramuscolare e di colesterolo di alcuni muscoli di specie diverse.

MUSCOLO	GRASSO %	COLEST. mg/100g	Riferimento bibliog.
BOVINO			
Semimembranosus	1,1	53	Garcia et al., 1995
Biceps femoris	1,2	49	"

MUSCOLO	GRASSO %	COLEST. mg/100g	Riferimento bibliog.
<b>BOVINO</b>			
Semimembranosus	1,1	53	Garcia et al., 1995
Biceps femoris	1,2	49	"
Semitendinosus	1,7	46	"
Longis. dorsi	2,6	50	"
Rectus femoris	2,9	47	"
Psoas major	4,5	54	"
Quadriceps femoris	2,2	49,0	Honikel&Arneth,1996
Semimembranosus	3,2	49,5	"
Semitendinosus	3,9	53,5	"
Longissimus dorsi	6,3	48,5	"
Cuore	6,0	150	Scherz e Senser, 1989
<b>OVINO</b>			
Semimembranosus	2,0	50	Garcia et al., 1995
Semitendinosus	2,2	49	"
Rectus femoris	2,6	50	"
Biceps femoris	2,1	49	"
Gluteus	2,2	50	"
<b>SUINO</b>			
Semitendinosus	4,5	50	Garcia et al., 1995
Semimembranosus	2,0	42	"
Longissimus dorsi	2,0	42	"
Biceps femoris	2,5	46	"
Gluteus	3,2	43	"
Tensor fasciae latae	3,8	43	"
Psoas major	2,1	44	"
Rectus femoris	2,2	45	"
Biceps femoris	1,7	48,6	Honikel&Arneth,1996
Longissimus dorsi	3,3	45,3	"
Semimembranosus	3,5	49,9	"
Collo	11,9	62,2	"
Pancetta	27,1	59,0	"
Filetto	1,6	55,0	"
Lardo dorsale	82,0	59,0	"
Cuore	3,6	150	Scherz e Senser, 1989
Lingua	11,3	86,7	Chizzolini et al., 1997
Lardo dorsale	70,3	53,6	"
Guancia	64,3	60,4	"
Trippini	5,8	141,2	"
<b>POLLO</b>			
Petto	1,0	38	Garcia et al., 1995
Coscia	3,6	63	"
Gamba	3,9	65	"
Petto senza pelle	0,7	43,4	Honikel&Arneth,1996
Petto con pelle	6,2	61,4	"
Gamba(proximale)senza	6,5	84,0	"

Petto	1,0	38	Garcia et al., 1995
Coscia	3,6	63	“
Gamba	3,9	65	“
Petto senza pelle	0,7	43,4	Honikel&Arneth,1996
Petto con pelle	6,2	61,4	“
Gamba(prossimale)senza pelle	6,5	84,0	“
Gamba (distale)con pelle	7,3	87,7	“
Ali con pelle	11,5	95,3	“
Cuore	5,8	170	Scherz e Senser, 1989
TACCHINO			
Petto senza pelle	1,0	44,0	Honikel&Arneth,1996
Gamba (distale)con pelle	5,7	71,9	“
Gamba(prossimale)con pelle	7,2	60,1	“
Alii con pelle	8,7	64,9	“
ANATRA			
Petto senza pelle	2,8	123	“
Petto con pelle	28,5	103	“

Sembra, quindi, che la differenza nella distribuzione dei tipi di fibre costituisca la ragione più plausibile delle differenze riscontrate nei vari muscoli e nelle varie specie.

Il rapporto tra contenuto muscolare di grasso e colesterolo è uno dei più discussi e studiati a causa della opinione diffusa che carni ricche di grasso siano necessariamente ricche anche di colesterolo.

Alcuni studi effettuati sul bovino (Hoelscher et al., 1988; Kinney Sweeten et al., 1990; Lewis et al. 1993) hanno dimostrato che nei muscoli il colesterolo è contenuto per il 60-80% nelle membrane e per il rimanente 20-40 nel citoplasma per un valore totale variabile tra i 61 e i 63,5mg/100g nel Longissimus dorsi. Nel tessuto adiposo sottocutaneo la membrana contiene l'8-12% del colesterolo totale mentre nel citoplasma è presente l'88-92%. Il tessuto adiposo intramuscolare, invece, presenta, una distribuzione intermedia con il 45% del colesterolo contenuto nelle membrane e il 55% nel citoplasma. Il contenuto totale di colesterolo nei due tipi di tessuto adiposo non sembra essere significativamente diverso (circa 115-120mg/100g). All'aumentare del grasso intramuscolare (fino a 11,2%) la distribuzione del colesterolo si modifica con un aumento del colesterolo di origine citoplasmatica ma anche con una diminuzione del colesterolo contenuto nelle membrane. Il contenuto totale varia quindi di molto poco: in valori assoluti da 1 a 3mg di colesterolo per 100g di carne. Contenuti relativamente elevati di grasso intramuscolare, quindi, non sono in relazione diretta con il contenuto di colesterolo nelle carni e l'eventuale modesto aumento del contenuto di colesterolo non ha un reale significato pratico. L'apporto di colesterolo da parte del tessuto adiposo sottocutaneo o di copertura dei muscoli potrebbe essere significativo nel caso tale tessuto fosse presente in quantità rilevanti.

Misure effettuate sui depositi adiposi del suino (Tab. 2), ad esempio il lardo dorsale e la pancetta (Honikel eArneth,1996, Chizzolini et al., 1997), diversamente da quanto riportato per il bovino, non hanno dimostrato un maggior contenuto di colesterolo in tali tessuti rispetto ai muscoli più rilevanti della stessa specie. Il dato meriterebbe di essere approfondito.

Il rapporto tra grasso e colesterolo può essere diverso nel caso dei prodotti a base di carne con contenuti di grasso elevati, come i salami, gli hamburger, ecc. (Tab. 3). In questo caso il contenuto di colesterolo presenta una variabilità elevata, legata al contenuto di grasso con coefficienti di correlazione che possono essere significativi quando il contenuto di grasso è veramente alto. Il contenuto di colesterolo potrebbe essere legato anche al tipo di muscoli impiegato per tali prodotti. Non è raro il caso, infatti, che vengano utilizzati muscoli di scarso valore commerciale, come i flessori ed estensori, gli intercostali, il diaframma, quelli del collo o della testa, spesso caratterizzati da un alto contenuto di fibre rosse e quindi anche da un alto contenuto di colesterolo. Lo stesso può dirsi per il caso particolare dei trippini utilizzati nella mortadella. Questo ingrediente, a basso contenuto di grassi, è ricco di cellule muscolari lisce e per questo contiene anche 141mg/100g di colesterolo (Tab. 2). I trippini vengono usati per conferire al prodotto caratteristiche di morbidezza e di pastosità e in parte possono sostituire il grasso nelle formulazioni. Ne deriva una riduzione del contenuto calorico ma non del colesterolo.

TABELLA 3. Contenuto di grasso, colesterolo e calorie di alcuni prodotti carnei (valori medi di più di un campione, adattati da più autori)

PRODOTTO	GRASSO %	COLEST. mg/100g	Kcal /100g	Riferimento biblio.
Hamburger	13,01	43,57	313	Slover et al., 1980
Beef sandwiches	15,39	55,63	316	"
Frankfurters bov-suino	26,7	46,7		Newkirk et al., 1978
Frankfurters bovino	25,5	40		"
Frankfurters pollo	23,4	94		"
Salame Milano	31	71		Novelli et al., 1997
Mortadella	27	81		"
Würstel	32	110	340	Cipolla, 1990
Prosciutto di Parma	16	80	240	"
Bresaola	8	37	225	"
Salsiccia di suino	37,12		391	Osburn e Keeton, 1994
Polpette bovino	19,2	86,3	272	Egbert et al., 1991.
Polpette bovino	1,4-35,3	78-90	110-360	Hoelscher et al., 1987
Prosciutto cotto	12,80	85	216	Scherz e Senser, 1989

#### Carni a basso contenuto di grasso: apporto calorico e contenuto di colesterolo

Nel corso degli ultimi due decenni sono stati fatti molti sforzi per ridurre il contenuto di grasso nelle carcasse degli animali da macello (Hafs and Zimbelman, 1994). I metodi utilizzati comprendono la selezione genetica, piani alimentari mirati, l'impiego di additivi alimentari (probiotici, antibiotici, ecc.) e interventi di tipo farmacologico (sostanze anabolizzanti,  $\beta$ -agonisti, ormone della crescita, ecc.). In un futuro prossimo la genetica molecolare produrrà sistemi mirati per il controllo della deposizione del grasso nei diversi tessuti.

I metodi utilizzati hanno consentito di ottenere una riduzione sostanziale del contenuto di grasso intramuscolare, di copertura e viscerale. A livello dietetico il grasso intramuscolare è il più importante in quanto non può essere eliminato prima del consumo. Gli altri tipi di tessuto adiposo possono essere eliminati e quindi rappresentano più un problema economico, in quanto perdite di resa commerciale, che non un problema nutrizionale.

Il contenuto di grasso nelle carni fresche magre oggi in commercio è spesso inferiore al 5% (Tab. 1, 2). Una ulteriore riduzione del contenuto di grasso intramuscolare significherebbe un peggioramento delle caratteristiche organolettiche, in primo luogo la succosità e l'aroma, come dimostrato in alcuni casi dalle carni suine e di pollo. Con simili contenuti di grasso il valore calorico delle carni si aggira sulle 120 kcal/100g e non può essere ridotto ulteriormente (Tab. 1).

La produzione di animali più magri ha probabilmente ridotto di qualche punto il contenuto di colesterolo non tanto per il minor apporto di colesterolo dal grasso, che, come si è visto, è trascurabile, ma perchè i metodi utilizzati per ridurre il grasso muscolare, nel caso per esempio della selezione genetica e di alcune sostanze ad attività anabolizzante, hanno portato allo sviluppo delle fibre bianche, o meglio dei muscoli a prevalente contenuto di fibre bianche. La spinta verso la crescita muscolare rapida ha infatti prodotto animali con ipertrofia muscolare, specie nelle regioni del lombo, della coscia e del petto in cui i muscoli hanno la tendenza verso un maggior contenuto di fibre bianche. Alcuni problemi di qualità delle carni, relativi per esempio al colore sbiadito, alla capacità di legare l'acqua, alla succosità, al tipo di metabolismo postmortale, hanno forti relazioni con tali caratteristiche anatomiche e fisiologiche.

I prodotti di carne, specialmente gli hamburger, i salami e simili, differiscono dalle carni fresche in quanto in questi prodotti la diminuzione del contenuto di grasso ha effetti significativi sull'apporto calorico e, in alcuni casi, anche sul contenuto di colesterolo.

I metodi utilizzati per ridurre il contenuto di grasso si basano sull'impiego di proteine, carboidrati e composti di sintesi denominati "fat analogues". Questi ultimi non sono al momento autorizzati per l'impiego nei prodotti carnei.

Le proteine e i carboidrati sono utilizzati in associazione con l'acqua per produrre dei gel che compensino la perdita di succosità, morbidezza, elasticità conseguente alla mancanza di grassi. Il quantitativo di tali sostanze utilizzato nei prodotti a basso contenuto di grasso è molto piccolo in quanto il vero sostituto del grasso è l'acqua ad essi legata. Il loro apporto calorico è quindi trascurabile.

Sia i carboidrati che le proteine utilizzati in sostituzione del grasso sono assolutamente privi di colesterolo per cui hanno un effetto indiretto di riduzione del colesterolo tramite l'aumento del contenuto di acqua. Lo stesso risultato non sarebbe ottenibile utilizzando semplicemente carni magre in quanto il colesterolo presente nelle membrane compenserebbe quello perso con il grasso eliminato.

Con questi metodi è possibile ridurre il contenuto di grasso da oltre il 30% a meno del 10% riducendo le calorie totali del 50% rispetto al valore iniziale e pertanto il contenuto di colesterolo a valori simili a quelli osservati nelle carni fresche (Keeton, 1994; Osburn and Keeton, 1994).

La differenza in contenuto calorico tra prodotti tradizionali e prodotti a contenuto ridotto di grasso può essere minore nei prodotti dopo cottura in quanto la cottura determina perdita di grassi per fusione nei prodotti ad elevato contenuto di grasso mentre determina perdita di acqua nei prodotti a basso contenuto di grasso con concomitante aumento relativo del contenuto di grasso e di colesterolo (Hoelscher et al., 1987).

## Processi ossidativi e qualità delle carni

La vita sulla Terra è strettamente legata alle reazioni di ossido-riduzione. La fotosintesi consiste in una reazione di riduzione che consente di immagazzinare l'energia radiante del sole in composti (i carboidrati) ricchi di energia. Gli organismi non fotosintetici ottengono l'energia di cui hanno bisogno ossidando i suddetti composti e su questa realtà si basa la cosiddetta catena alimentare.

È molto importante per la cellula che l'ossigeno, utilizzato per la ossidazione dei composti energetici, venga ridotto completamente a due molecole di acqua ricevendo quattro elettroni. Se l'ossigeno viene ridotto solo parzialmente si producono delle forme chimiche (radicali liberi) quali, per esempio, il radicale ossidrilico, l'acqua ossigenata e il radicale superossido. Dal punto di vista chimico un radicale libero è un atomo o una molecola capace di esistenza indipendente che contiene uno o più elettroni non accoppiati. I radicali liberi sono di solito instabili, cioè chimicamente molto reattivi, e quindi hanno la capacità di indurre danni estesi all'organismo. Sono in grado di attaccare le proteine, il DNA e gli acidi grassi insaturi dei lipidi di membrana, modificandone la struttura.

Le cellule hanno sviluppato dei meccanismi di difesa che si basano su sistemi enzimatici (superossido dismutasi, catalasi, glutazione perossidasi), definiti antiossidanti primari, e su molecole di basso peso molecolare in grado di captare i radicali liberi (glutazione, vitamina E, vitamina C, carotenoidi), definiti antiossidanti secondari. Esistono anche i cosiddetti antiossidanti terziari, sistemi che sono in grado di riparare le molecole, in particolare il DNA, danneggiate dai radicali liberi.

Un gran numero di fenomeni patologici è stato collegato a processi di tipo ossidativo ma soltanto in alcuni casi è stato provato che lo stress ossidativo contribuisce in modo significativo all'attività patologica, tra queste l'artrite reumatoide e l'aterosclerosi.

Il meccanismo biochimico della formazione della placca aterosclerotica non è del tutto chiaro. Uno dei segni più precoci è costituito dall'accumulo di lipidi ad opera dei macrofagi nelle pareti delle arterie con formazione di cellule schiumose. Per quanto l'aumento del contenuto plasmatico di LDL sia legato alla formazione di cellule schiumose in vivo, non sembra che i macrofagi siano in grado di accumulare LDL normali ma solo quelle che hanno subito un processo di ossidazione. Le LDL ossidate sembra possiedano proprietà chemiotassiche che facilitano l'accumulo di monociti nel sangue. Questi penetrano nell'intima delle arterie, dove si differenziano diventando macrofagi, e stimolano la proliferazione delle cellule muscolari lisce e dei fibroblasti. I macrofagi catturano le lipoproteine ossidate che inibiscono la migrazione dei macrofagi dalla parete arteriosa. In questo modo si accumulano grandi quantità di macrofagi carichi di lipidi che diventano le strie adipose. Le LDL ossidate, inoltre, sarebbero citotossiche, con conseguenti ulteriori lesioni arteriose, e interagirebbero con le piastrine favorendone l'aggregazione.

La formazione iniziale delle strie adipose può essere impedita da parte di antiossidanti in grado di proteggere le LDL da danni ossidativi. È stato dimostrato che bassi valori di  $\alpha$ -tocoferolo, ascorbato e  $\beta$ -carotene nel plasma sono associati ad un aumento del rischio di comparsa delle patologie cardiovascolari. La vitamina E è l'antiossidante più abbondante nelle LDL ma la sua efficacia a prevenirne la ossidazione si è dimostrata variabile da individuo a individuo. Nonostante, quindi, l'ipotesi ossidativa della aterosclerosi si presenti come molto logica il suo reale valore richiede di essere provato.

La autoossidazione dei lipidi insaturi determina la formazione di molecole ad attività radicalica in quantità significative. I radicali liberi così prodotti coossidano diverse vitamine, quali le vitamine E, C, A, i carotenoidi e molte altre molecole tra cui il colesterolo che è presente nei lipidi di membrana. Questa coossidazione può portare alla formazione di una classe di composti, gli ossisteroli dotati di vari effetti patogeni.

Il colesterolo nativo non è aterosclerotico. Sono i prodotti di ossidazione (LDL ossidate) che sembra intervengano nella genesi della lesione aterosclerotica mentre i depositi di colesterolo e dei suoi esteri rappresenterebbero un fenomeno secondario (Addis, 1986). È stato dimostrato che l'uomo è in grado di assorbire gli ossisteroli, eventualmente presenti negli alimenti, immettendoli nel plasma con i chilomicroni (Emanuel et al., 1991). L'organismo, tuttavia, dispone di sistemi di rimozione rapida degli ossidi del colesterolo dal plasma.

Gli ossisteroli di più comune riscontro nelle carni sono gli  $\alpha$ -epossidi, il 7-chetocolesterolo, il 7 $\alpha$ -idrossicolesterolo, il 7 $\beta$ -idrossicolesterolo, il 20 $\alpha$ -idrossicolesterolo e il 25-idrossicolesterolo. Il 25-idrossicolesterolo, unitamente al colestaneetriolo, sarebbe il composto dotato di maggiore attività citotossica (Peng et al., 1979). Gli stessi prodotti di ossidazione si sono dimostrati in grado di produrre lesioni di tipo aterosclerotico e sono stati osservati, trasportati dalla apolipoproteina B, nelle LDL e nelle VLDL ma non nelle HDL (Peng et al., 1982).

Gli ossidi del colesterolo sembra vengano incorporati nelle membrane cellulari dove interferirebbero in alcuni cicli metabolici. Il 25-idrossicolesterolo inibisce l'attività della 3-idrossi-3metil-glutaril-CoA-riduttasi. Il 5,6-epossicolesterolo si è dimostrato mutageno e ossidi del colesterolo sono risultati carcinogeni (Bösinger et al., 1993).

Grassi trattati termicamente e prodotti carni precotti sono tra gli alimenti a rischio quanto a contenuto di ossidi del colesterolo. Carne bovina non macinata precotta sembra che non contenga quantità apprezzabili di ossidi del colesterolo, ma circa il 2% del colesterolo in carne bovina macinata e precotta sembra sia ossidato.

La perossidazione dei lipidi costituisce uno dei meccanismi primari di alterazione degli alimenti conservati, specie nel caso delle carni.

La reazione inizia con la perdita di un atomo di idrogeno da parte del lipide in presenza di metalli in tracce, luce o calore. Il radicale lipidico libero che ne deriva reagisce con l'ossigeno e forma radicali perossido. In questo processo di propagazione il radicale lipidico perossido reagisce con altri lipidi e forma idroperossidi lipidici che costituiscono i prodotti primari

fondamentali dell'autoossidazione.

Gli antiossidanti possono interrompere questa reazione a catena reagendo con i perossidi lipidici per formare radicali stabili.

La decomposizione degli idroperossidi lipidici costituisce un processo molto complesso e produce una grande quantità di sostanze che possono avere attività biologica o effetti deleteri sull'aroma degli alimenti. La decomposizione procede per rottura del radicale idroperossido e formazione del radicale alcoxilico. Questi radicali subiscono idrolisi dei legami carbonio dando origine a composti quali aldeidi, chetoni, alcoli, idrocarburi, esteri, furani e lattoni.

Gli idroperossidi lipidici possono reagire ulteriormente con l'ossigeno a formare prodotti secondari quali epossididroperossidi, chetoidroperossidi, diidroperossidi, perossidi ciclici, ecc.. Questi composti secondari possono a loro volta decomporsi in prodotti volatili. Gli idroperossidi lipidici possono anche condensarsi in dimeri e polimeri che a loro volta si rompono e producono composti volatili.

Infine gli idroperossidi lipidici ed alcuni dei loro prodotti di degradazione possono interagire con le proteine, le membrane e gli enzimi. Reazioni di questo tipo possono avere effetti negativi su funzioni vitali delle cellule.

L'ossidazione biologica è in gran parte dovuta a reazioni catalizzate da ioni metallici di cui il ferro è il principale. Gli ioni ferrosi in soluzione acquosa in condizioni di aerobiosi producono superossido, perossido di idrogeno e radicale ossidrilico. L'acido ascorbico, il NAD(P)H, il glutatone e la cisteina sono ben noti composti riducenti presenti nei tessuti biologici. Essi riducono lo ione ferrico a ione ferroso dando origine ad un ciclo di ossido-riduzione.

Pochi radicali ossidrilici derivanti dal ciclo redox del ferro riescono a dare inizio alla ossidazione degli acidi grassi polinsaturi presenti nei trigliceridi. Dal momento in cui vengono formati i primi idroperossidi la propagazione della perossidazione lipidica viene catalizzata dalla demolizione dei perossidi a radicali liberi. Tutte queste reazioni non vengono influenzate dalla superossido dismutasi, dalla catalasi e dagli spazzini dei radicali ossidrilici.

Il colore delle carni è sostanzialmente dovuto alla mioglobina in funzione della concentrazione e dello stato chimico di questa. La concentrazione determina l'intensità del colore, che può variare dal rosa pallido al rosso cupo, mentre lo stato chimico è responsabile del tipo di colore che, a parità di intensità, può variare dal rosso-rosa vivo al rosso-mattone spento. La quantità di mioglobina presente è in genere in funzione della intensità e del tipo di attività muscolare, del rifornimento di sangue, della disponibilità di ossigeno, dell'età, del sesso e della razza e/o specie. Lo stato chimico è, invece, strettamente legato ai fenomeni di ossido-riduzione, a loro volta fortemente influenzati dalle modalità di conservazione e di trasformazione.

I vari complessi noti dell'eme, della globina e dei ligandi possono essere raggruppati in due gruppi maggiori di tipi di legami: ionici e covalenti. Ciascuno di questi contiene membri in cui il ferro è o nella forma ferrosa (2+) o nella forma ferrica (3+). Per quanto concerne il colore della carne i complessi covalenti sono di interesse prevalente poiché è in questa classe che si trovano i pigmenti rosso vivo tanto desiderati nella carne fresca e nei prodotti di salumeria.

La ossimioglobina e la nitrosomioglobina sono esempi di complessi ferrosi covalenti della mioglobina con l'ossigeno e con l'ossido nitrico. Questi complessi sono di colore rosso.

Tuttavia, è l'ossigeno, specialmente se a basse tensioni, di cui la mioglobina è un trasportatore che tende a trasformare il pigmento nella forma ossidata (ferrica). Quest'ultima, denominata metamioglobina, non è in grado di legare l'ossigeno.

In presenza di ossigeno, perciò, la mioglobina viene trasformata in due diversi pigmenti, la ossimioglobina e la metamioglobina, la prima è ossigenata mentre la seconda è ossidata, la prima è di colore rosso vivo mentre la seconda è di colore rosso marrone.

La struttura e la chimica dell'atomo di ferro è la chiave per capire le reazioni e le alterazioni del colore cui va sottoposta la mioglobina.

Il ferro è un metallo di transizione della prima serie, il che significa che ha un insieme di elettroni del livello 3d incompleto. Il numero di ossidazione massimo è +6 ma generalmente compare solamente negli stati +2 e +3. A causa della sua bassa elettronegatività può perdere due elettroni di valenza (4s) per formare il catione ferroso (Fe<sup>2+</sup>) o tre elettroni di valenza (due del livello 4s e uno del livello 3d) per formare il catione ferrico (Fe<sup>3+</sup>). L'allontanamento dei due elettroni 4s con formazione dello stato +2 è relativamente facile. Il successivo allontanamento di un elettrone 3d provoca la formazione dello stato +3. Nel caso del ferro ciò avviene facilmente poiché con ciò il livello 3d rimane semicompleto.

La disposizione degli elettroni negli orbitali 3d è responsabile dell'assorbimento della luce visibile e, quindi, del colore dei complessi della mioglobina. La disposizione degli elettroni negli orbitali del livello 3d può essere di due tipi principali, uno ad alta ed uno a bassa energia. Il modo in cui gli elettroni d riempiono i livelli energetici dipende dai ligandi. I derivati ad alto spin hanno molti elettroni non appaiati e sono denominati paramagnetici. I derivati che non presentano elettroni spaiati sono di basso spin e si chiamano diamagnetici. Il ferro ossidato ad alto spin (paramagnetico) è presente nella metamioglobina. Il ferro ridotto a basso spin (diamagnetico) si trova nei complessi della mioglobina con l'ossigeno, l'ossido nitrico e il monossido di carbonio.

Ossidazione dei grassi e della mioglobina sono associati strettamente. Un aumento di uno dei due comporta una maggiore ossidazione anche dell'altro. Può essere che radicali prodotti durante l'ossidazione dei grassi agiscano accelerando direttamente l'ossidazione del pigmento o indirettamente danneggiando i sistemi riducenti del pigmento. Vi è una correlazione positiva altamente significativa tra aumento della metamioglobina e produzione di malonaldeide (Faustman et al., 1992; Sahoo e Anjaneyulu, 1997)).

I processi ossidativi, o fenomeni di ossido-riduzione, rappresentano, quindi, un insieme complesso di reazioni di cui fanno parte componenti di tipo nutrizionale e qualitativo-organolettico di notevole importanza. Il controllo di meccanismi biochimici alla base delle ossido-riduzioni costituisce un obiettivo fondamentale della ricerca nel settore alimentare.

PAROLE CHIAVE: Carni, Grassi, Colesterolo, Ossidazione, Salute, Qualità

KEY WORDS: Meats, Fats, Cholesterol, Oxidation, Health, Quality

RIASSUNTO. Gli autori passano in rassegna i complessi rapporti esistenti tra carni, contenuto di grassi e di colesterolo, obesità, malattie cardiovascolari croniche, fenomeni ossidativi e

qualità organolettiche nel contesto delle conoscenze attuali. Nell'articolo viene trattato il ruolo che la carne, in base al consumo medio, può svolgere nel controllo della obesità e dei livelli di colesterolo e di lipoproteine ematiche. Particolare attenzione è rivolta ai fenomeni ossidativi dei grassi e del colesterolo ed agli effetti che tali reazioni si ritiene abbiano sulla salute umana. Viene discussa anche l'interazione tra processi ossidativi e componenti organolettiche importanti quali il colore, l'aroma e il sapore delle carni e dei prodotti carnei.

**SUMMARY. FATS, CHOLESTEROL AND OXIDATION: RELATIONSHIP WITH HUMAN HEALTH AND QUALITY OF MEAT PRODUCTS.** The authors review the relationships which exist between meats, fat and cholesterol contents, obesity, chronic cardiovascular diseases, oxidative phenomena and quality in the light of present knowledge. The paper presents the role of meat, as related with average consumption, in the control of obesity and of plasma levels of cholesterol and lipoproteins. The attention is drawn to the oxidation of fats and cholesterol and to the effects that oxidation has on human health. The interaction between oxidative processes and organoleptic qualities, such as colour, aroma and flavour, is also discussed.

## BIBIOGRAFIA

- Ackeson K., Schültz Y., Bessard T., Ravussin E., Jéquier E. and Flatt J.P. (1984) Nutritional influences on lipogenesis and thermogenesis after a carbohydrate meal. *American Journal of Physiology*, 246, E62.
- Ackeson K., Schültz Y., Bessard T., Anatharama K., Flatt J.P. and Jéquier E. (1988) Glycogen storage capacity and de novo lipogenesis during massive carbohydrate overfeeding in man. *American Journal of Clinical Nutrition*, 48, 240-251.
- Addis P.B. (1986) Occurrence of lipid oxidation products in foods. *Food and Chemical Toxicology*, 24, 1021-1030.
- Bösiinger S., Luf W., Brandl E. (1993) Oxysterols: their occurrence and biological effects. *International Dairy Journal*, 3, 1-33.
- Bouchard C., Pérusse L., LeBlanc C., Tremblay A., Thériault G. (1988) Inheritance of the amount and distribution of human body fat. *International Journal of Obesity*, 12, 205-209.
- Chizzolini R., Novelli E., Zanardi E. (1997) Dati in corso di pubblicazione.
- Cipolla M. (1990) Problemi pratici nell'alimentazione dello sportivo: i plus delle carni e dei salumi. *Rivista della Società Italiana dell'Alimentazione*, 19, 103-111.
- Consensus Conference (1985). Lowering blood cholesterol to prevent heart disease. *Journal of the American Medical Association*, 253, 2080-2088.
- Egbert W.R., Huffman D.L., Chen C.M., Dylewski D.P. (1991) Development of low-fat ground beef. *Food Technology*, 45, n° 6, 64-73.
- Emanuel H.A., Hassel C.A., Addis P.B., Beergmann S.D., Zavoral J.H. (1991) Plasma cholesterol oxidation products (oxysterols) in human subject fed a meal rich in oxysterols. *Journal of Food Science*, 56, 843-847.
- Faustman C., Specht S.M., Malkus L.A., Kinsman D.M. (1992) Pigment oxidation in ground veal: influence of lipid oxidation, iron and zinc. *Meat Science*, 31, 351-362.
- Feeley R.M., Criner P.E., Watt B. K. (1972) Cholesterol content of foods. *Journal of the American Dietetic Association*, 61, 134-149.
- Flatt J.P. (1991) Opposite effects of variations in food intake on carbohydrate and fat oxidation in ad libitum fed mice. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 2, 186-195.
- Flatt J.P. (1993) The impact of dietary fat and carbohydrates on body weight maintenance. In "Low-Calorie Foods Handbook" (Altschul A.M. editor), Marcel Dekker, New York, p. 441-477.
- Foreyt J.P., Poston W.S. Carlos Poston II (1997) Diet, genetics and obesity. *Food Technology*, 51, 70-73.
- Garcia P.T., Casal J.J., Margaria C.A., Pensel N.A. (1995) Cholesterol content in different meats. *Proceedings of the 41st International Congress of Meat Science and Technology*, S. Antonio, Texas, A21, 54-55.
- Hafs H.D. and Zimbelman R.G. (1994) Low-fat Meat Products. Design Strategies and Human Implications. Academic Press, New York.
- Heyden S. (1994) Polyunsaturated and Monounsaturated Fatty Acids in the diet to prevent coronary heart disease via cholesterol reduction. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 38, 117-122.
- Hegsted D.M., McGandy R.B., Myers M.L., Stare F.J. (1965) Quantitative effect of dietary fat on serum cholesterol in man. *American Journal of Clinical Nutrition*, 17, 281-295.
- Hellerstein M.K., Christiansen M., Kaempfer S., Klete C., Wu K., Reid J.S., Mulligan K., Hellerstein N.S. and Shackleton C.H.L. (1991) Measurement of the de novo lipogenesis in humans using stable isotopes. *Journal of Clinical Investigation*, 87, 1841.
- Hoelscher L.M., Savell J.W., Harris J.M., Cross H.R., Rhee K.S. (1987) Effect of initial fat level and cooking method - cholesterol content and caloric value of ground beef patties. *Journal of Food Science*, 52, 883-885.
- Hoelscher L.M., Savell J.W., Smith S.B., Cross H.R. (1988) Subcellular distribution of cholesterol within muscle and adipose tissues of beef loin steaks. *Journal of Food Science*, 53, 718-722.
- Honikel K.O. (1992) Fleisch- und Fleischoverzehr (Meat and meat fat ingestion). *Fleischwirtschaft*, 72, 1145-1148.
- Honikel K.O., Ameth W. (1996) Cholesteringehalt in Fleisch und Eiern. *Fleischwirtschaft*, 76, 1244-1253.
- I.N.N. (1997) Linee guida per una alimentazione italiana. Istituto Nazionale della Nutrizione, Via Ardeatina 546, Roma.
- Kahn H.A., Medalie J.H., Neufeld H.N., Riss E., Balogh M., Groen J.J. (1969) Serum cholesterol, its distribution and association with dietary and other variables in a survey of 10,000 men. *Israel Journal of Medical Science*, 5, 117-1127.
- Keeton J.T. (1991) Fat substitutes and fat modification in processing. *Reciprocal Meat Conference Proceedings*, 44, 79-91.
- Keeton J.T. (1994) Low-fat meat products - Technological problems with processing. *Meat Science*, 36, 261-276.
- Keys A., Anderson J.T., Mickelsen O., Adelson S.F., Fidanza F. (1956) Diet and serum cholesterol in man, lack of effect of dietary cholesterol. *Journal of Nutrition*, 59, 39-56.
- Kinney Sweeten M., Cross H.R., Smith G.C., Smith S.B. (1990) Subcellular distribution and composition of lipids in muscle and adipose tissues. *Journal of Food Science*, 55, 43-45.
- Klurfeld D.M. (1994) Human nutrition and health implications of meat with more muscle and less fat. In "Low-fat Meat Products. Design Strategies and Human Implications"; Hafs H.D. and Zimbelman R.G. Editors, Academic Press, New York. 35-51.
- Kritchevsky D., Moyer A.W., Tesar W.C., Logan J.B., Brown R.A., Davies M.C., Cox H.R. (1954) Effect of cholesterol vehicle in experimental atherosclerosis. *American Journal of Physiology*, 178, 30-32.
- Kritchevsky D., Moyer A.W., Tesar W.C., McCandless R.F., Logan J.B., Brown R.A., Englert M. (1956) Cholesterol vehicle in experimental atherosclerosis II. Effect of unsaturation. *American Journal of Physiology*, 185, 279-280.
- Lawrie R.A. (1991) *Meat Science*, Pergamon Press, Oxford.
- Lewis P.K.jr., Rakes L.K.Y., Brown H.G., Brown A.H. jr., Johnson Z., Brown C.J. (1993) Effects of maturation rate, marbling and cooking on the fat, cholesterol and lipid phosphorus composition of beef muscle. *Journal of Muscle Foods*, 4, 41-56.
- Morris J.N., Marr J.W., Heady J.A., Mills G.L., Pilkington T.R.E. (1963) Diet and plasma cholesterol in 99 bank men. *British Medical Journal*, 1, 571-576.
- Nelson G.J., Schmidt P.C., Kelley D. S. (1995) Low-fat diets do not lower plasma cholesterol levels in healthy men compared to high-fat diets with similar fatty acid composition at constant caloric intake. *Lipids*, 30, 969-976.
- Newkirk D.R., Sheppard A.J., Hubbard W.D., Osgood T. (1978) Individual lipids and proximate analysis of various foods. 2 Frankfurters and other meat and poultry products. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 26, 348-350.
- Nichols A.B., Ravenscroft C., Lamphier D.E., Ostrander L.D. Jr. (1976) Daily nutritional intake and serum lipid levels. The Tecumseh study. *American Journal of Clinical Nutrition*, 29, 1384-1392.
- Novelli E., Zanardi E., Ghirelli Gp. Campanini G., Dazzi G., Madarena G., Chizzolini R. (1997) Lipid and cholesterol oxidation in frozen stored pork, salame Milano and mortadella. *Meat Science*, accepted for

publication.

- Osborn W.N., Keeton J.T. (1994) Konjac flour gel as fat substitute in low-fat prerigor fresh pork sausage. *Journal of Food Science* 59, 484-489.
- Peng S.K., Tham P., Taylor C.B., Mikkelsen B. (1979) Cytotoxicity of oxidation derivatives of cholesterol on cultured aortic smooth muscle cells and their effect on cholesterol biosynthesis. *American Journal of Clinical Nutrition*, 32, 1033-1040.
- Peng S.K., Taylor C.B., Mosbach E.H., Huang W.Y., Hill J., Mikkelsen B. (1982) Distribution of 25-hydroxycholesterol in plasma lipoproteins and its role in atherogenesis. *Atherosclerosis*, 41, 395-402.
- Reddy B. S. (1995) Nutritional factors and colon cancer. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 35, 175-190.
- Sahoo J., Anjaneyulu A.S.R. (1997) Quality improvement of ground buffalo meat by preblending with sodium ascorbate. *Meat Science*, 46, 237-247.
- Scherz H., Senger F. (1989) *Food composition and nutrition tables 1989/1990*. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, 1989.
- Simopoulos A.P. (1997) Diet and gene interactions. *Food Technology*, 51, n° 3, 66-69.
- Slover H.T., Lanza E., Yhompson R.H. j (1980) Lipids in fast foods. *J. Food Science*, 45, 1583-1591.
- Smith D.P., Fletcher D.L., Buhr R.J., Beyer R.S. (1993) Pekin duckling and broiler chicken pectoralis muscle structure and composition. *Poultry Science*, 72, 202-208.
- Vergroesen A.J., Crawford M.A. (1989) *The role of fats in human nutrition*. Academic Press Ltd.
- Williams R.R. (1988) Nature, nurture and family predisposition. *New England Journal of Medicine*, 318, 769-771.
- World Health Organization (WHO) Study Group (1990). *Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases*. WHO Technical Report Ser. 797.
- Zhang Y., Proenca R., Maffei M., Barone M., Leopold L., Friedman J.M. (1994) Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*, 372, 425-432.

# STABILITÀ DEI GRASSI E DEL COLORE NELLA MORTADELLA IN FUNZIONE DI ALCUNE SOSTANZE ANTIOSSIDANTI

Novelli E., Zanardi E., Ghiretti Gp., Chizzolini R.

*Istituto di Scienza e Tecnologia degli Alimenti, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Parma*

Ricerca eseguita con il contributo finanziario del Ministero della Università e della Ricerca Scientifica. Progetto Nazionale: Qualità delle produzioni zootecniche (1995-1996).  
Si ringraziano i Sigg. E. Campesato e C. Damaschi per la collaborazione prestata.

## Introduzione

Nel corso di una precedente sperimentazione condotta sul salame Milano (Ghiretti et al., 1996) è stata studiata l'attività antiossidante di catechina, acido fitico e sesamolo a confronto con l'ascorbato e con l'assenza di additivi antiossidanti. I risultati hanno dimostrato l'assenza di effetti sulle caratteristiche di composizione, sulla fermentazione microbica e sulle proprietà organolettiche delle molecole utilizzate. È emerso, invece, che il colore nel salame affettato, confezionato sottovuoto ed esposto alla luce in un banco di vendita atto a simulare condizioni commerciali, era meno stabile nelle formulazioni che non contenevano ascorbato. La stabilità ossidativa dei grassi misurata tramite il numero dei perossidi e il TBA era minore in presenza di ascorbato allo 0,2%, mentre l'ossidazione del colesterolo sembrava essere inibita maggiormente dal sesamolo e dall'ascorbato. Nonostante il dubbio derivante dalla osservazione della scarsa stabilità del colore nel salame confezionato sottovuoto, si è ritenuto potenzialmente interessante ripetere l'esperimento con le stesse molecole utilizzate nella produzione della mortadella. Si tratta in questo caso di un prodotto macinato come il salame ma sottoposto a cottura invece che a fermentazione e stagionatura. Le problematiche di stabilità all'ossidazione sono senz'altro diverse nella mortadella a causa dell'effetto delle alte temperature sulla formazione del colore e sull'ossidazione dei grassi.

Il trattamento termico ha effetti negativi sulla struttura cellulare, inattiva gli enzimi (compresi quelli ad azione riducente) e libera l'ossigeno dalla ossimoglobina preparando il terreno per la produzione di acqua ossigenata. La cottura prolungata ha l'effetto di liberare gli ioni ferro dai gruppi eme, la cui attività proossidante è ben nota e la macinatura aumenta la superficie di esposizione all'ossigeno e agli altri catalizzatori della ossidazione. Il cloruro di sodio ha effetti proossidanti (Kanner, 1994) secondo vari meccanismi, uno dei quali è quello di spostare gli ioni ferro dai gruppi prostetici rendendoli disponibili per la catalisi ossidativa.

Le molecole scelte fanno parte di un gruppo di sostanze di cui è nota l'attività antiossidante (Namiki, 1990; Shahidi et al., 1992; Ramarathnam et al., 1995; Zhou and Erdman, 1995). La scelta si è basata anche sulle caratteristiche di solubilità poiché la maggior parte degli antiossidanti naturali non sono, o sono poco, idrosolubili e questo crea delle difficoltà durante la lavorazione delle carni (Johnson, 1995). I prodotti di salumeria sono costituiti da una miscela di parti magre e di parti grasse e si prestano maggiormente per molecole idrosolubili, specie se in soluzioni a bassa forza ionica, poiché gli additivi vengono aggiunti in una fase in cui vengono estratte le proteine miofibrillari. L'acido fitico è idrosolubile, la catechina è solo parzialmente idrosolubile e il sesamolo è liposolubile.

La catechina, l'acido fitico e il sesamolo sono i più studiati tra gli antiossidanti naturali e hanno diversi meccanismi di azione, non tutti completamente chiariti. La catechina e il sesamolo sono dei composti fenolici, agiscono come accettori di radicali e interrompono la catena di reazioni ossidative (Namiki, 1990; Shahidi et al., 1992). La catechina è estratta dalle foglie del tè verde e il sesamolo è presente nei semi di sesamo. L'acido fitico è un composto naturalmente presente nei cereali, agisce chelando gli ioni ferro liberi, è un potente inibitore della formazione di radicali idrossilici, catalizzata dal ferro, e della perossidazione lipidica (Empson et al., 1991). L'acido fitico sembra abbia anche un effetto ipocolesterolemizzante (Zhou and Erdman, 1995).

## Materiali e Metodi

Le mortadelle sono state prodotte in lotti di 100kg ciascuno utilizzando spalle di suino (40%), trippini (25%), lardelli di gola (25%), emulsione di grasso (ghiaccio/grasso/caseinato=5/5/1) (10%), sale (2,15%), saccarosio (1,28%), caseinato (1%), polifosfati (0,3%), sale nitrato (0,2%) e spezie.

Le materie prime erano fresche, provenienti da un unico macello e appartenenti ad un lotto di suini pesanti.

Per quanto concerne gli antiossidanti i 6 impasti si differenziavano nel seguente modo:

1. Formulazione senza antiossidanti
2. Formulazione con ascorbato 0.1%
3. Formulazione con ascorbato 0.2%
4. Formulazione con catechina 4.6x10<sup>-4</sup> M (Sigma, C-1251)
5. Formulazione sale sodico dell'acido fitico, 4.6x10<sup>-4</sup> M (Sigma, P-3168)
6. Formulazione sesamolo 4.6x10<sup>-4</sup> M (Sigma S-6517).

Gli antiossidanti sono stati miscelati allo stato di polvere con il sale, gli additivi e gli aromi. Le miscele sono state aggiunte agli impasti.

Le dosi degli antiossidanti sono state scelte dopo alcune considerazioni. L'acido ascorbico e gli ascorbati sono consentiti alla dose massima dello 0,2% ma vengono utilizzati a dosi variabili dallo 0,1 allo 0,2% a seconda dei prodotti e delle tecnologie impiegate. La dose dello 0,1% corrisponde a quanto normalmente utilizzato dallo stabilimento per la mortadella, mentre lo 0,2% rappresenta il massimo consentito.

Le dosi degli altri antiossidanti sono state definite in funzione di quanto consentito per i tocoferoli naturali. L'uso di concentrazioni espresse in moli aveva la funzione di evitare il rischio, legato all'impiego di percentuali, di usare un numero di molecole molto diverso trattandosi di composti di peso molecolare differente.

Le analisi chimiche sono state effettuate sulle mortadelle dopo 1 settimana di conservazione a 4°C. Le analisi relative alla ossidazione dei grassi comprendevano la determinazione del numero dei perossidi, delle TBARS, del colesterolo totale e degli ossidi del colesterolo (Novelli et al., 1997). Si è proceduto anche alla determinazione della composizione centesimale, del cloruro sodico, dei nitriti e del pH (Zanardi et al., 1994).

Lo studio ha compreso la valutazione della stabilità del colore delle mortadelle affettate, confezionate in atmosfera protettiva e sottovuoto, ed esposte in banchi di vendita atti a simulare condizioni commerciali. Il confezionamento in atmosfera protettiva è stato effettuato con una miscela di azoto e anidride carbonica nella proporzione di 85/15.

Le confezioni sono state poste in banchi espositori refrigerati a +4°C con un ciclo di illuminazione di 12 ore/giorno, ottenuto con lampade fluorescenti (Philips TLD 18W/96: 6500 K, indice cromatico 97, rapporto lumen/watt 65) e una intensità luminosa di circa 1000 lux. La valutazione sensoriale è stata effettuata tre volte la settimana da un panel di 10 membri i quali erano chiamati a giudicare in merito alla comparsa/presenza del colore bruno-marrone dovuto alla ossidazione del nitrosomiocromogeno a porfirine ossidate. Il giudizio relativo al colore marrone variava da 1 (molto leggero) a 5 (molto accentuato).

I sei diversi tipi di mortadella sono stati pure sottoposti alla valutazione sensoriale completa da parte di un panel di assaggiatori per una serie di caratteri organolettici secondo una scala da 1 a 5 (1= presenza del carattere in modo appena accennato; 5= presenza del carattere in modo molto accentuato).

Il panel di valutatori ha espresso anche un giudizio di intensità del colore su fette fresche di taglio.

Il colore è stato misurato con un colorimetro (Minolta Chromameter Reflectance II CR200/08) utilizzando la sorgente D65 e il sistema L\*a\*b\* (C.I.E. 1976). Su ciascun campione sono state fatte quattro misure.

## RISULTATI E DISCUSSIONE

I valori del numero dei perossidi (Tab. 2) hanno mostrato incrementi nelle formulazioni contenenti ascorbato. Le misure di TBARS, invece, hanno mostrato un andamento opposto, vale a dire una diminuzione dei valori nei campioni contenenti ascorbato. L'ascorbato ha confermato l'effetto di stimolo delle reazioni di trasformazione del nitrito che portano alla formazione di composti con la mioglobina (Cassens et al., 1979). Infatti, le formulazioni che contenevano ascorbato sono risultate quelle con il più basso contenuto di nitriti residui (Tab. 1).

TABELLA 1. Parametri compositivi delle mortadelle: composizione centesimale, cloruro sodico, idrossiprolina e nitriti residui

Formulazione	Umidità %	Proteine %	Grassi %	Ceneri %	NaCl %	OHProlina g/kg	Nitriti ppm	pH
Senza Antiossid.	47,95	15,48	32,87	3,30	2,69	3,42	132,06	6,40
Na-Ascorbato 0,1%	44,82	15,06	37,06	3,22	2,75	3,30	57,23	6,38
Na-Ascorbato 0,2%	48,20	16,89	31,40	3,41	2,63	4,00	16,64	6,32
Catechina	45,35	14,83	36,76	3,09	2,46	3,38	148,77	6,40
Acid Fítico	47,65	15,14	33,84	3,22	2,69	3,46	155,45	6,49
Sesamolo	44,62	14,98	37,59	3,07	2,46	3,12	142,08	6,36

TABELLA 2. Numero dei Perossidi (N.P.) e valori delle TBARS (mg MDA/kg tessuto fresco) (lettere diverse in apice stanno ad indicare differenze significative per  $P \leq 0,05$ , test di Scheffè).

Formulazione	N.P.	TBARS
Senza Antiossid.	1,0±0,1	0,33±0,02 <sup>a</sup>
Na-Ascorbato 0,1%	1,6±0,3	0,27±0,02 <sup>b</sup>
Na-Ascorbato 0,2%	1,6±0,2	0,27±0,01 <sup>b</sup>
Catechina	1,2±0,2	0,35±0,01 <sup>a</sup>
Acid Fítico	0,8±0,1	0,37±0,02 <sup>a</sup>
Sesamolo	0,7±0,1	0,32±0,02 <sup>a</sup>

I suddetti risultati confermano in parte quanto ottenuto con il salame Milano (Ghiretti et al., 1996) ove si era riscontrato un aumento del numero dei perossidi e dei valori di TBARS nella formulazione con ascorbato allo 0,2%. Nel salame il sesamolo era legato a valori inferiori del TBARS.

La determinazione degli ossidi del colesterolo (Tab. 3) ha dimostrato la presenza di 7-idrossicolesterolo in tutte le formulazioni, di 7-chetocolesterolo in tutte le formulazioni, eccetto quella contenente catechina, e di 5,6-epossicolesterolo solo nella formulazione con sodio ascorbato 0,2%. Il 20-idrossicolesterolo e il 25-idrossicolesterolo non sono mai stati osservati. La percentuale totale di colesterolo ossidato è generalmente inferiore allo 0,12%, con i valori inferiori riscontrati rispettivamente nelle formulazioni con catechina, senza antiossidanti aggiunti, con sesamolo e con acido fitico. Le formulazioni con ascorbato hanno fornito valori più alti e proporzionali alla dose utilizzata.

TABELLA 3. Contenuto di colesterolo (mg/100g di campione) e di ossisteroli ( $\mu\text{g/g}$ ) delle mortadelle (COPS: Ossidi del Colesterolo) (N.D.= non determinabile).

Formulazione	Colesterolo	7 $\beta$ -OH-	5,6 $\alpha$ - epossi-	20 $\alpha$ - OH-	7-cheto-	25-OH-	COPS Totali	Ossidazione colesterolo%
Senza Antiossid.	102,5±0,2	0,14±0,00	N.D.	N.D.	0,11±0,02	N.D.	0,25	0,02
Na-Ascorbato 0,1%	82,5±5,1	0,32±0,01	N.D.	N.D.	0,32±0,01	N.D.	0,64	0,08
Na-Ascorbato 0,2%	88,2±2,6	0,36±0,01	0,23±0,07	N.D.	0,49±0,06	N.D.	1,08	0,12
Catechina	92,1±7,5	0,15±0,30	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0,15	0,02
Acid Fítico	123,3±7,9	0,14±0,00	N.D.	N.D.	0,27±0,00	N.D.	0,41	0,03
Sesamolo	102,3±6,7	0,25±0,01	N.D.	N.D.	0,14±0,02	N.D.	0,38	0,04

I risultati non sono molto diversi da quelli riscontrati nel salame Milano nel quale gli ossidi regolarmente riscontrati sono stati il 5,6-epossicolesterolo, il 7-idrossicolesterolo e il 7-chetocolesterolo. Il sesamolo e l'ascorbato nel salame sembravano essere gli antiossidanti a maggior effetto sulla stabilità del colesterolo mentre la catechina mostrava l'effetto minore.

Le misure di colore e la valutazione sensoriale della intensità del colore rosso (Tab. 4) sulle fette tagliate di fresco hanno mostrato una maggiore intensità di colore rosso-rosa ( $a^*$  e Cromo) e minori valori di Tinta nel caso della formulazione con 0,2% ascorbato. Il risultato è probabilmente da attribuirsi all'effetto positivo dell'ascorbato sulla formulazione del nitrosomiocromogeno (Cassens et al., 1979).

TABELLA 4. Misure e valutazione sensoriale del colore delle mortadelle (Medie  $\pm$  Deviazione Standard)  
(lettere diverse in apice stanno ad indicare differenze significative per  $P \leq 0,05$ , test di Scheffè).

Formulazione	L*	a*	b*	Tinta	Croma	Val.Sens.
Senza Antiossid.	62,4 $\pm$ 1,3	14,2 $\pm$ 0,6 <sup>b</sup>	10,7 $\pm$ 0,3 <sup>bc</sup>	0,64 $\pm$ 0,02 <sup>ab</sup>	17,8 $\pm$ 0,6 <sup>b</sup>	2,2 $\pm$ 0,3 <sup>b</sup>
Na-Ascorb. 0,1%	62,8 $\pm$ 1,6	14,2 $\pm$ 0,8 <sup>b</sup>	11,4 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	0,68 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	18,3 $\pm$ 0,7 <sup>b</sup>	2,2 $\pm$ 0,3 <sup>b</sup>
Na-Ascorb. 0,2%	61,3 $\pm$ 1,0	16,4 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>	11,5 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	0,61 $\pm$ 0,02 <sup>b</sup>	20,1 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	3,0 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>
Catechina	62,9 $\pm$ 1,0	14,1 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>	10,5 $\pm$ 0,2 <sup>bc</sup>	0,64 $\pm$ 0,01 <sup>ab</sup>	17,6 $\pm$ 0,2 <sup>b</sup>	2,1 $\pm$ 0,3 <sup>b</sup>
Acid Fittico	62,7 $\pm$ 1,0	13,7 $\pm$ 0,4 <sup>b</sup>	11,0 $\pm$ 0,4 <sup>ab</sup>	0,68 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	17,5 $\pm$ 0,4 <sup>b</sup>	2,1 $\pm$ 0,2 <sup>b</sup>
Sesamolo	63,6 $\pm$ 0,7	13,8 $\pm$ 0,2 <sup>b</sup>	10,2 $\pm$ 0,3 <sup>c</sup>	0,63 $\pm$ 0,01 <sup>ab</sup>	17,2 $\pm$ 0,3 <sup>b</sup>	2,1 $\pm$ 0,3 <sup>b</sup>

Le prove di stabilità del colore (Fig. 1 e 2), sia sottovuoto sia in atmosfera modificata, hanno mostrato un andamento simile a quello osservato nel caso del salame confezionato sottovuoto (Ghiretti et al., 1996). Il colore è risultato più stabile nelle formulazioni con ascorbato e, in particolare, alla dose dello 0,1%. Tutte le altre formulazioni, specialmente quelle con gli antiossidanti naturali, hanno dimostrato scarsa stabilità del colore.

FIGURA 1. Stabilità del colore delle mortadelle confezionate sottovuoto

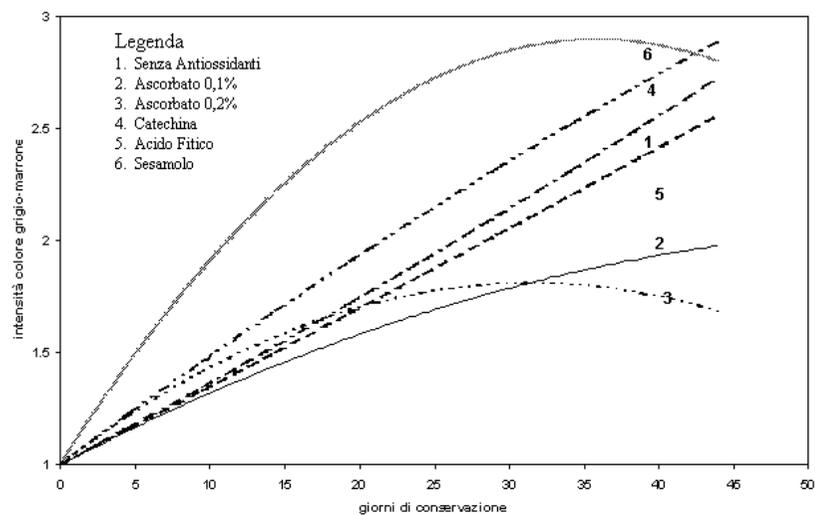
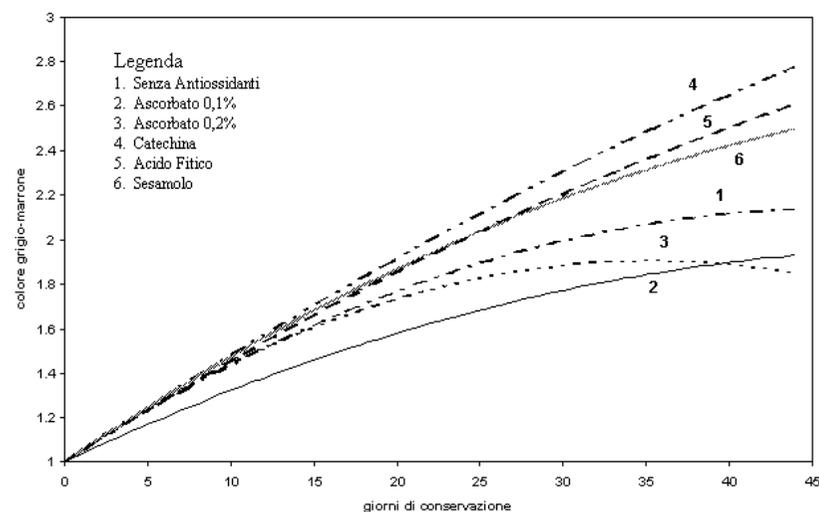


FIGURA 2. Stabilità del colore delle mortadelle confezionate in atmosfera protettiva



L'indicazione di massima che è emersa da questa sperimentazione è che gli antiossidanti studiati hanno effetti diversi sulla stabilità del colore e su quella dei grassi.

I valori del numero dei perossidi sembrano indicare che nel salame gli antiossidanti vegetali rallentano i fenomeni ossidativi mentre l'ascorbato 0,2% avrebbe effetti proossidanti (Ghiretti et al., 1996). Nella mortadella l'effetto proossidante dell'ascorbato si è manifestato solo per i perossidi mentre per il TBARS sembrerebbe avere effetto antiossidante. I risultati della ossidazione del colesterolo sembrano andare nella stessa direzione del salame. I livelli di ossidazione sono, comunque, piuttosto contenuti, probabilmente anche a causa della presenza dei nitriti in tutte le formulazioni.

Risulta confermata la mancanza di azioni protettive degli antiossidanti vegetali contro l'alterazione del colore durante la conservazione ed esposizione alla luce. In questo contesto l'azione positiva espressa dall'ascorbato è conseguente al fatto che tale composto migliora la formazione di nitrosomioglobina aumentando la produzione di ossido nitrico tramite la riduzione del nitrito (Cassens et al., 1979). L'effetto appare dimostrato anche dalla osservazione della relazione diretta esistente tra i nitriti residui e le dosi di ascorbato. I risultati negativi in merito alla stabilità del colore porterebbero alla esclusione dei nuovi antiossidanti, se usati in assenza di ascorbato, dalle formulazioni sia dei prodotti crudi fermentati (salame) che nei prodotti macinati cotti a pasta fine (mortadella) giacché la stabilità del colore rappresenta il fattore determinante ai fini della vita commerciale di tali prodotti alimentari.

PAROLE CHIAVE: mortadella, ossidazione, antiossidanti, grassi, colore.

KEY WORDS: mortadella, oxidation, antioxidants, lipids, colour.

RIASSUNTO. I fenomeni ossidativi ed antiossidativi cui possono andare incontro il colore e i lipidi della mortadella sono stati studiati utilizzando sei formulazioni diversificate in base agli additivi antiossidanti aggiunti all'impasto. Sono stati prodotti sei impasti di salame Milano di cui uno senza antiossidanti aggiunti, due con ascorbato di sodio (0,1 e 0,2%), uno con catechina, uno con acido fitico ed uno con sesamolo. Le mortadelle sono state sottoposte a controlli di tipo compositivo, di intensità del colore con valutazione sensoriale e strumentale, di stabilità del colore alla esposizione alla luce e di stabilità dei lipidi alla ossidazione. I risultati hanno dimostrato che i sei impasti non differivano quanto a composizione e caratteristiche sensoriali. Le prove di confezionamento in atmosfera protettiva e sottovuoto hanno dimostrato la inefficacia di tutte le formulazioni eccetto quelle con l'ascorbato. La determinazione del numero dei perossidi e delle TBARS ha messo in evidenza un probabile effetto proossidante dell'ascorbato allo 0,2%. L'ossidazione del colesterolo sembra essere inibita al massimo grado dal sesamolo e dall'ascorbato mentre la catechina si pone all'estremo opposto.

SUMMARY: VEGETABLE ANTIOXIDANTS AND STABILITY OF FATS AND COLOUR IN MORTADELLA. The investigation has looked at oxidative processes in Mortadella in relation with new and old antioxidant additives. Six formulations were produced of which one without antioxidants, two with sodium ascorbate (0.1 and 0.2%), one with catechin, one with phytic acid, and one with sesamol.

The six formulations were checked for composition, colour intensity and stability to light exposure, and lipid oxidation.

Sensory evaluation of colour stability of mortadella packed under vacuum and protective atmosphere showed that colour was most stable in the case of Sodium ascorbate added formulations, and in particular, with the low dose (0.1%) of ascorbate. All other formulations, especially the ones with natural antioxidants, showed lower colour stability. A significant difference has been observed in the intensity of the pink-red colour of processed mortadella added with the maximum dose of Sodium ascorbate (a\* values and sensory scores). Such a difference was also perceived by panel members.

Peroxide values determination has given indications of a possible prooxidant effect of ascorbate compared with an effective antioxidant activity of the other molecules tested. TBARS values showed the opposite effect.

Cholesterol oxides measurements have shown the presence of 7 $\beta$ -OHcholesterol in all formulations, 7-ketocholesterol in all formulations except catechin, 5,6 $\alpha$ -epoxycholesterol only in the formulation with Sodium ascorbate 0.2%; 20 $\alpha$ -OHcholesterol and 25-OHcholesterol have never been observed. Total oxysterols were always low, the lowest values being, in order, those of the formulations with catechin, with no antioxidants, with sesamol and with phytic acid. Sodium ascorbate was linked with higher values, which increased, moreover, with the dose used.

## BIBLIOGRAFIA

- Cassens R.G., Greaser M.L., Ito T. and Lee M. (1979) Reactions of nitrite in meat. Food Technology, July, 46-57.
- CIE (Commission International de l'Eclairage) (1976). 18th Session, London, England, September 1975, CIE Publication 36.
- Empson K.L., Labuza T.P. and Graf E. (1991) Phytic acid as food antioxidant. Journal of Food Science, 56, 560-563.
- Ghiretti G.P., Zanardi E., Novelli E., Bergamini I., Lambertini L., Campanini G., Dazzi G., Madarena G., Chizzolini R. (1996) Valutazione comparativa dell'effetto di antiossidanti diversi nella produzione del salame Milano. Annali Facoltà Medicina Veterinaria Parma, 16, 169-183.
- Johnson L.E. (1995) Food technology of the antioxidant nutrients. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 35, 149-159.
- Kanner J. (1994) Oxidative processes in meat and meat products: quality implications. Meat Science, 36, 169-189.
- Namiki M. (1990) Antioxidants/antimutagens in food. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 29, 273-300.

- Novelli E., Zanardi E., Ghirelli Gp, Campanini G., Dazzi G., Madarena G., Chizzolini R. (1997) Lipid and cholesterol oxidation in frozen stored pork, salame Milano and mortadella. *Meat Science*, accepted for publication.
- Ramarathnam N., Osawa T., Ochi H., Kawakishi S. (1995) The contribution of plant antioxidants to human health. *Trends in Fd. Sci. Technol.*, 6, 75-82.
- Shahidi F., Janitha P.K. and Wanasundara P.D. (1992) Phenolic antioxidants. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 32, 67-103.
- Zanardi E., Novelli E., Campanini G., Chizzolini R. (1994) Oxidation patterns of lipids in mortadella and salame Milano. *Annali Facoltà Medicina Veterinaria Parma*, 14, 315-327.
- Zhou J.R. and Erdman J.W. (1995) Phytic acid in health and disease. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 35, 495-508.

L'EVOLUZIONE NELLA DISCIPLINA DELL'ACCERTAMENTO DEI REQUISITI DI FRESCHEZZA DELLE DERRATE ITTICHE - COMMENTO AL REG. CE 2406/96

Bentley S.

*Istituto di Ispezione degli Alimenti di Origine Animale - Facoltà di Medicina Veterinaria - Università degli Studi di Parma*

Il raggiungimento di elevati standards qualitativi si pone come l'obiettivo di ogni filiera produttiva in campo alimentare; quando sono in causa derrate ittiche, tale finalità è indissolubilmente legata alla freschezza della materia prima, sia nei confronti del pesce immesso sul mercato "tal quale", sia da avviare alla trasformazione. La definizione di freschezza, tuttavia, influenzata come è da molteplici fattori, sia di natura intrinseca che ambientale, ha sempre posto problemi agli operatori, problemi derivanti dalla necessità di inquadrare gli esami utilizzabili in uno schema unico e ripetibile (e possibilmente rapido, data l'estrema deteriorabilità dell'alimento).

Il Decreto Legislativo n° 531 del 30/12/1992, concernente le norme sanitarie applicabili ai prodotti della pesca, pone in primo piano nel suo Allegato (Capitolo V, Paragrafo II, comma 1) l'accertamento dei requisiti di freschezza, come *conditio sine qua non* per la immissione sul mercato, e stabilisce la priorità del controllo organolettico su eventuali prove chimiche o microbiologiche. Esso infatti, al di là dell'apparente soggettività, consente di raccogliere un numero di informazioni che, unite al necessario vaglio dell'esperienza personale, permette la formulazione di un giudizio ragionato.

Nel passato vigeva la convinzione semplificatrice che fosse possibile ricondurre la determinazione dello stato di freschezza dei prodotti ittici ad un unico modulo operativo: espressione di tale convincimento fu il cosiddetto schema Artioli - Ciani (1954), ancor oggi diffusamente adottato dagli operatori sanitari. Punto centrale di questo modello era la classificazione della derrata esaminata in quattro categorie (freschissimo, fresco, stantio ed alterato) sulla base delle caratteristiche rilevabili all'esame sensoriale; queste ultime venivano distinte in fondamentali ed ausiliarie. Tra le prime veniva inserita la rigidità cadaverica (presente solo nel pesce freschissimo) ed il rilievo olfattivo, che procedeva dal caratteristico odore "salso" alla tonalità fecaloide-ammoniacale. Tra le caratteristiche ausiliarie, al contrario, venivano riportati quei parametri di rilevanza complementare in quanto dovuti anche ad un complesso di fattori "esterni", sia di specie che ambientali, quali la stagione o la modalità di cattura, ma cionondimeno utili ai fini del completamento del giudizio ispettivo: l'aspetto generale, la consistenza, l'aspetto dell'occhio ed il colore delle branchie. È importante sottolineare la valenza dello schema Artioli-Ciani, frutto di considerazioni che avevano come obiettivo la qualità del prodotto.

L'esigenza di andare oltre questo primo *modus operandi* divenne evidente per intervenute esigenze commerciali, più che di ordine igienico-sanitario: l'aumentato movimento di derrate di ogni provenienza, anche da bacini prima di minore rilevanza, pose l'accento sulla necessità di una velocizzazione delle procedure, oltre che di una classificazione più uniforme a livello Comunitario; venne così messo a punto uno schema in grado di attribuire un vero e proprio punteggio alle singole partite, sulla base di uno spettro di rilievi più ampio rispetto all'Artioli-Ciani, e non più ripartito in due differenti ordini di importanza: è il modello proposto con il Reg. CEE 103/76, che arrivava a fornire una media aritmetica risultante dall'esame delle singole caratteristiche prese in considerazione.

Su questo strumento legislativo vennero successivamente introdotte importanti modifiche, volte ad allargare il campo di specie esaminabili, nonché la tipologia di prodotto ittico; a fianco della consueta presentazione commerciale riconducibile al "prodotto intero", si era andata infatti nel frattempo imponendo la commercializzazione di quelli che il D. Lgs. n° 531 del 30/12/92 definirà "prodotti preparati", ossia i prodotti della pesca sottoposti ad un trattamento che abbia modificato l'integrità anatomica, quali l'eviscerazione, la decapitazione, la sfilettatura, l'affettatura, la tritatura, ecc.. La modifica più sostanziale prese corpo con il nuovo Regolamento comunitario, il 33/89 del 5/1/89, che superava il concetto di valutazione aritmetica delle singole caratteristiche rilevabili all'esame organolettico, per giungere alla definizione di "criteri minimi di freschezza" applicabili, è bene sottolinearlo, ad un numero limitato di specie. Detto regolamento prevedeva di considerare, ai fini del giudizio finale, anche la presenza di parassiti e la loro eventuale incidenza negativa sulla qualità del prodotto, tenuto conto della sua natura e presentazione; tale ultima considerazione prescindeva, ovviamente, dalle necessarie e prioritarie valutazioni di ordine sanitario, ma a parere di chi scrive rappresentava (e rappresenta, essendo stata riportata nella normativa vigente) una sorta di compromesso tra esigenze di ordine commerciale e necessità di tutela igienico-sanitaria, un "*pactum sceleris*" che non sempre ha sortito effetti positivi in merito al raggiungimento di obiettivi qualitativi in campo alimentare.

Nella classificazione della partita con lo schema del regolamento in esame entrava invece, fattore positivo, il requisito di omogeneità della stessa, nonché la valutazione di parametri in grado di avere anche ripercussioni di ordine igienico-sanitario (residui di alghe, sudiciume, lesioni superficiali), ai fini dell'inserimento in una delle tre classi per l'ammissione al libero consumo: (Extra, A e B). La tabella di valutazione relativa alle categorie di freschezza, contenuta nell'Allegato A (l'Allegato B conteneva le tabelle di calibrazione), contemplava il rilievo dell'aspetto esterno relativamente alla pelle, all'occhio ed alle branchie, a livello delle quali è valutato sia il colore che la presenza di muco. Veniva quindi considerato anche l'aspetto della carne e degli organi interni ed il colore lungo la colonna vertebrale (considerazioni queste che consentivano come accennato in precedenza l'esame del semilavorato); questa valutazione prettamente visiva era quindi integrata dall'esame tattile, volto al rilievo della consistenza e dello stato della carne, della colonna vertebrale e del peritoneo. Era prevista, per concludere, anche la valutazione olfattiva, da espletarsi sia a livello branchiale, dove possibile, sia sulla superficie cutanea e a livello della cavità addominale.

In tempi più recenti, anche le considerazioni che avevano portato all'elaborazione del regolamento precedente sono state in parte ampliate, in parte riviste. Si è avvertita in particolar modo l'esigenza di andare ancora oltre, accogliendo la conclusione, formulata da numerosi Autori, secondo la quale la definizione dei parametri di freschezza dei prodotti della pesca non è riconducibile ad un unico schema operativo, ma anzi è influenzata da una moltitudine di parametri, il principale dei quali è rappresentato proprio dalla variabilità di specie. È noto infatti che la deteriorabilità dei pesci varia in misura anche considerevole sulla base della famiglia esaminata, in conseguenza di fattori biochimici, metabolici, nutrizionali: già altri studiosi avevano infatti posto in risalto la necessità di adattare gli schemi operativi tradizionali per la valutazione organolettica dei prodotti ittici, diversificandone la modalità a seconda della famiglia in esame e specificando inoltre la differente attendibilità degli esami chimici collaterali (Civera, 1995). Non è un caso se la determinazione di uno dei parametri chimici proposti come esame collaterale per valutare lo stato di freschezza, ossia l'ABVT (Azoto Basico Volatile Totale) è stata soggetta a limiti massimi stabiliti sulla base della specie di appartenenza, come di seguito riportato:

Livelli di ABVT consentiti in alcune specie  
( Decisione 95 / 149 CEE)

Scorfani atlantici e di fondale:	25 mg / 100 g
Pleuronettidi (ad eccezione dell' halibut)	30 mg / 100 g
Salmo salar, Merluccidi e Gadidi	35 mg / 100 g

Si è così arrivati all' emanazione del Regolamento CE n°2406/96, (pubblicato in G.U. CE, serie L n°334 del 23/12/1996) , che intende disciplinare le norme comuni di commercializzazione di alcuni prodotti della pesca e che rappresenta l' ultima evoluzione in materia di classificazione di detti alimenti. Visto l' obiettivo del lavoro, ci limiteremo a considerare gli aspetti relativi alla freschezza, tralasciando l' Allegato 2, relativo alle tabelle di calibrazione delle derrate ittiche . Nonostante la valenza di questo strumento legislativo sia primariamente commerciale, come più volte ricordato nelle premesse volte a inquadrare la "ratio" del provvedimento, è bene segnalare anche le innovazioni in esso contenute, prima fra tutte la già ricordata introduzione del concetto di "variabilità" interspecifica nel determinismo e nella cronologia degli eventi alterativi; viene infatti ricordato come "occorre prevedere un numero limitato ma sufficiente di categorie di freschezza in base a tabelle di classificazione adattate a ciascun gruppo di prodotti ", forse un passo indietro rispetto agli omnicomprensivi regolamenti del passato, ma a parere di chi scrive viene al contrario introdotto un significativo elemento di chiarezza.

Un ulteriore indirizzo di semplificazione nelle procedure d'esame arriva inoltre dalla raccomandazione di omogeneità all' interno della medesima partita, non solo per quanto riguarda lo stato di freschezza e la specie, ma altresì per quanto attiene all' area di provenienza e addirittura al battello; sancito come un obbligo nelle premesse, questi ultimi due elementi divengono tuttavia nell' enunciato finale (art.1, comma 2, lettera b), un mero auspicio: alla definizione di "partita" si può leggere infatti " una certa quantità di prodotti appartenenti alla stessa specie, sottoposti allo stesso trattamento e che potrebbero provenire dallo stesso luogo di pesca e dalla stessa nave". E' prevista anche la possibilità di una disomogeneità nello stato di freschezza di partite numericamente contenute, ma questo si traduce in un immediato deprezzamento dell' intero novero esaminato, che viene classificato interamente nella più bassa categoria rappresentata (Art. 5, comma 1).

Il regolamento non inficia le disposizioni della Direttiva 91/493 (recepita in Italia con il D. Lgs n° 531 del 30/12/1992), altro importante punto, riportato tra le disposizioni generali (Art. 1, comma 3, lettera a); a detta di alcuni, tale precisazione fornisce una rilevante garanzia igienico-sanitaria nell' espletamento dell'esame volto alla classificazione, con riferimento alle strutture ed alle condizioni operative, che devono corrispondere ai requisiti della Direttiva riportata.

Anche qui, come nel precedente Regolamento esaminato, il numero di specie coinvolte è ancora limitato ma, come è possibile rilevare, viene coperta una parte consistente dei prodotti commercializzati sui nostri mercati. L' Art. 3 fornisce l' elenco completo, qui riportato:

**A. PESCE BIANCO**

**Eglefini (*Melanogrammus aeglefinus*)**

**Merluzzi bianchi (*Gadus morhua*)**

**Merluzzi carbonari (*Pollachius virens*)**

**Merluzzi gialli (*Pollachius pollachius*)**

**Scorfani del Nord o sebasti (*Sebastes spp.*)**

**Merlani (*Merlangius merlangius*)**

**Molve (*Molva spp.*)**

**Naselli (*Merluccius merluccius*)**

**Pesci castagna (*Brama spp.*)**

**Rane pescatrici (*Lophius spp.*)**

**Merluzzi francesi (*Trisopterus luscus*)**

**Merluzzi capellani(*Trisopterus minutus*)**

**Boghe(*Boops boops*)**

**Menole (*Maena smaeris*)**

**Gronghi (*Conger conger*)**

**Caponi (*Trigla spp.*)**

**Cefali (*Mugil spp.*)**

**Passere di mare (*Pleuronectes platessa*)**

**Rombi gialli (*Lepidorhombus spp.*)**

**Sogliole(Solea spp.)**

**Limande (Limanda limanda)**

**Sogliole limande (Microstomus kitt)**

**Passere pianuzze(Platichthys flesus)**

**Pesci sciabola (Lepidopus caudatus e Arphanopus carbo)**

#### **B. PESCE AZZURRO**

**Tonni bianchi o alalunga (Thynnus alalunga)**

**Tonni rossi (Thunnus thynnus)**

**Tonni obesi (Thunnus o Parathunnus obesus)**

**Melù o Potassoli (Micromesistius/ Gadus potassou)**

**Merlani (Melangius merlangus)**

**Aringhe (Clupea Harengus)**

**Sardine (Sardina pilchardus)**

**Sgombri (Scomber scombrus/ Scomber japonicus)**

**Suri (Trachurus spp.)**

**Acciughe (Engraulis spp.)**

#### **C. SELACI:**

**Spinaroli (Squalus acanthias)**

**Gattucci (Scyliorhinus spp.)**

**Razze (Raja spp.)**

#### **D. CEFALOPODI**

**Seppie (Sepia officinalis e Rossia macrosoma)**

#### **E. CROSTACEI, sia presentati vivi, freschi, refrigerati, che cotti all' acqua o al vapore**

**Gamberetti grigi (Crangon crangon)**

**Gamberetti boreali (Pandalus borealis)**

**Scampi (Nephrops norvegicus)**

Tali prodotti possono essere immessi in commercio solo se conformi alle disposizioni del regolamento (Art.2, comma 1) , ad eccezione delle piccole quantità di prodotto, ceduto direttamente dal pescatore costiero al dettagliante o al consumatore (Art. 2, comma 2).

Le categorie di freschezza previste variano a seconda del prodotto considerato(Art. 4, comma 2): per pesci, selaci, cefalopodi e scampi le partite possono essere inquadrate come appartenenti alle categorie Extra, A o B, mentre per i gamberetti la categoria B non è prevista. Vi è poi la categoria E , prefigurata solo per gli scampi vivi. Come nel regolamento 33/89, ai fini del giudizio vengono prese in considerazione anche le lesioni o il sudiciume riscontrabile sul pesce esaminato; più precisamente(Art. 6, commi 2,3,4):

Categoria Extra:	- assenza di sudiciume o forte decolorazione - nessun segno di pressione o scorticateure
Categoria A	- assenza di sudiciume o forte decolorazione - tollerata proporzione minima con lievi segni di pressione o scorticateure superficiali
Categoria B	- assenza di sudiciume o forte decolorazione - tollerata proporzione minima con segni di pressione o scorticateure superficiali più evidenti

Ai fini della classificazione della partita, come già ricordato in precedenza, si tiene conto anche dell' eventuale presenza di parassiti visibili, intendendosi come tali " quei parassiti che per numero, colore o struttura possono chiaramente essere distinti dai tessuti del pesce , senza l' ausilio di strumenti ottici d' ingrandimento" (Art.1, comma 2, lett. e).

L' allegato I del Regolamento 2406/96 riporta il "cuore" del provvedimento, ossia le tabelle di valutazione che consentono la classificazione nelle varie categorie: quest'ultima deve essere riportata in modo chiaro e leggibile sulle etichette apposte sulle singole partite, con caratteri di altezza minima di 5 cm (Art. 5, comma 2).

#### A. PESCE BIANCO

Criteri	Categoria di freschezza			
	Extra	A	B	Non ammesso
Pelle	Pigmento vivo e cangiante ( ad eccezione dei sebasti ) o opalescente; senza tracce di decolorazione	Pigmentazione viva ma priva di lucentezza	Pigmentazione spenta in via di decolorazione	Pigmentazione spenta
Muco Cutaneo	Acquoso, trasparente	Leggermente torbido	Lattiginoso	Muco grigio-giallognolo, opaco
Occhio	Convesso ( sporgente ); pupilla nera brillante; cornea trasparente	Convesso e leggermente infossato; pupilla nera spenta; cornea leggermente opalescente	Piatto, cornea opalescente ; pupilla opaca	Concavo al centro; pupilla grigia; cornea lattiginosa
Branchie	Colore vivo; senza muco	Meno colorato; piu' trasparente	Bruno-grigio in via di decolorazione; muco opaco e spesso	Giallognolo; muco lattiginoso
Peritoneo (nel pesce senza visceri)	Liscio, brillante; aderisce bene alla carne	Un po' opaco; puo' staccarsi dalla carne	Grumoso; si stacca facilmente dalla carne	Non resta attaccato
Odore delle branchie e della cavita' addominale -Pesce Bianco esclusa la passera di mare  - Passera di mare	Di alghe marine  Di olio fresco; peperino; odore di terra	Senza odore di alghe marine; odore neutro Di olio; di alghe marine o leggermente dolciastro	Odore di fermentazione, leggermente acre di olio, di fermentazione, di stantio, leggermente rancido	Acre  Acre
Carne	Soda ed elastica	Meno elastica	Leggermente molle ( flaccida ),meno elastica; superficie cerea( vellutata ) e spenta	Molle ( flaccida ); squame si staccano facilmente dalla pelle, superficie piuttosto rugosa

			<i>molle (flaccida),meno elastica; superficie cerea( vellutata ) e spenta</i>	<i>squame si staccano facilmente dalla pelle, superficie piuttosto rugosa</i>
--	--	--	---	---

**Criteria extra per la rana pescatrice senza testa**

<i>Vasi Sanguigni (Muscoli ventrali)</i>	<i>Contorni netti e rosso vivo</i>	<i>Contorni netti, colore piu' scuro del sangue</i>	<i>Diffusi e bruni</i>	<i>Totalmente diffusi, bruni con ingiallimento della carne</i>
--	------------------------------------	---	------------------------	--

**B. PESCE AZZURRO**

<i>Criteria</i>	<i>Categoria di freschezza</i>			
	<i>Extra</i>	<i>A</i>	<i>B</i>	<i>Non ammesso</i>
<i>Pelle</i>	<i>Pigmento cangiante, colori vivi, brillanti, con tendenza all' iridescenza; netta differenza tra superficie dorsale e ventrale</i>	<i>Perdita di lucentezza e aspetto meno brillante; colori piu' smorti; minore differenza tra superficie dorsale e ventrale</i>	<i>Spenta, senza lucentezza, colori slavati; la pelle fa delle pieghe se si incurva il pesce</i>	<i>Pigmentazione molto spenta; la pelle comincia a staccarsi dalla carne</i>
<i>Muco Cutaneo</i>	<i>Acquoso, Trasparente</i>	<i>Leggermente torbido</i>	<i>Lattiginoso</i>	<i>Muco grigio-giallognolo, opaco</i>
<i>Consistenza della carne</i>	<i>Molto soda , rigida</i>	<i>Assai rigida, soda</i>	<i>Leggermente molle</i>	<i>Molle (flaccida );</i>
<i>Opercoli</i>	<i>Argentati</i>	<i>Argentati, leggermente colorati di rosso o di marrone</i>	<i>Imbrunimento ed estese soffusioni ematiche</i>	<i>Giallognoli</i>
<i>Occhio</i>	<i>Convesso (sporgente); pupilla blu-nera brillante; "palpebra" trasparente</i>	<i>Convesso e leggermente infossato; pupilla oscura; cornea leggermente opalescente</i>	<i>Piatto, pupilla offuscata; soffusioni ematiche attorno all' occhio</i>	<i>Concavo al centro; pupilla grigia; cornea lattiginosa</i>
<i>Branchie</i>	<i>Colore uniforme da rosso scuro a porpora senza muco</i>	<i>Colore meno vivo; piu' pallido sui bordi. muco trasparente</i>	<i>In via di fitta decolorazione ; muco opaco</i>	<i>Giallognole; muco lattiginoso</i>
<i>Odore delle branchie</i>	<i>Fresco, di alghe marine piccante, salso</i>	<i>Senza odore di alghe marine; odore neutro</i>	<i>Odore grasso, leggermente solforoso di ritagli di bacon</i>	<i>Marcio acre</i>

	<i>porporascenza muco</i>	<i>borai.muco trasparente</i>	<i>muco opaco</i>	
<i>Odore delle branchie</i>	<i>Fresco, di alghe marine piccante, salso</i>	<i>Senza odore di alghe marine; odore neutro</i>	<i>Odore grasso, leggermente solforoso di ritagli di bacon rancido o di frutta marcia</i>	<i>Marcio acre</i>

*Qui l'accento viene posto in special modo sull'accertamento visivo; l'iridescenza è in effetti un parametro abbastanza caratteristico, senza dubbio più del bulbo oculare, che manifesta la concavità più tardi di altre specie: particolare, per intensità, il requisito olfattivo a livello degli opercoli, ben definito come "piccante" nell'animale fresco.*

### **C. SELACI**

<i>Criteria</i>	<i>Categoria di freschezza</i>			
	<i>Extra</i>	<i>A</i>	<i>B</i>	<i>Non Ammesso</i>
<i>Occhio</i>	<i>Convesso, molto brillante e iridato; piccole pupille</i>	<i>Convesso e leggermente infossato; meno brillante e iridescente, pupille ovali</i>	<i>Piatto, opaco</i>	<i>Concavo giallastro</i>
<i>Aspetto</i>	<i>Rigor mortis totale o parziale; presenza di un po' di muco chiaro sulla pelle</i>	<i>Rigor mortis assente; assenza di muco sulla pelle ed in particolare in bocca e sulle aperture branchiali</i>	<i>Un po' di muco presente nella bocca e sulle aperture branchiali; mascella leggermente appiattita</i>	<i>Notevoli quantità di muco nella bocca e sulle aperture branchiali</i>
<i>Odore</i>	<i>Di alghe marine</i>	<i>Senza odore o con un leggerissimo odore di stantio, ma non ammoniacale</i>	<i>Odore leggermente ammoniacale; aspro</i>	<i>Odore ammoniacale pungente</i>

Qualche critica potrebbe essere mossa per questa parte inerente agli Elasmobranchi, nei quali lo sviluppo dell'odore ammoniacale, caratteristica spia di alterazione nei Teleostei, rappresenta un evento relativamente precoce, tanto da raccomandare la spellatura (Civera e Manzoni, 1993).

**Criteria specifici o aggiuntivi per la razza**

<i>Pelle</i>	<i>Pigmentazione viva, cangiante e lucente; muco acquoso</i>	<i>Pigmentazione viva, muco acquoso</i>	<i>Pigmentazione spenta, in via di decolorazione, muco opaco</i>	<i>Decolorazione, muco che si addensa nelle pieghe della pelle</i>
<i>Struttura della carne</i>	<i>Soda ed elastica</i>	<i>Soda</i>	<i>Molle</i>	<i>Flaccida</i>
<i>Aspetto</i>	<i>Pinne incurvate e trasparenti ai margini</i>	<i>Pinne rigide</i>	<i>Molle</i>	<i>Afflosciato</i>
<i>Stomaco</i>	<i>Bianco e lucente, con margine violaceo delle pinne</i>	<i>Bianco e lucente con chiazze rosse solo attorno alle pinne</i>	<i>Bianco ed opaco, con numerose chiazze gialle o rosse</i>	<i>Da giallo a verdognolo; chiazze rosse sulla carne</i>

**D. CEFALOPODI**

<i>Criteria</i>	<i>Categoria Di Freschezza</i>		
	<i>Extra</i>	<i>A</i>	<i>B</i>
<i>Pelle</i>	<i>Pigmentazione viva, pelle aderente alla carne</i>	<i>Pigmentazione spenta; pelle aderente alla carne</i>	<i>Decolorazione; la pelle si stacca facilmente dalla carne</i>
<i>Carne</i>	<i>Molto soda; color bianco madreperla</i>	<i>Soda; color bianco gesso</i>	<i>Leggermente molle; bianco rosato o leggermente ingiallita</i>
<i>Tentacoli</i>	<i>Resistenti alla trazione</i>	<i>Resistenti alla trazione</i>	<i>Meno resistenti alla trazione</i>
<i>Odore</i>	<i>Fresco; d'alghe marine</i>	<i>Lieve o assente</i>	<i>Odore d' inchiostro</i>

**E. CROSTACEI**

**1) Gamberetti**

<i>Criteria</i>	<i>Categorie di freschezza</i>	
	<i>Extra</i>	<i>A</i>
<i>Caratteristiche minime</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Superficie del carapace : umida e lucente</li> <li>- In caso di travaso, i gamberetti devono cadere separatamente</li> <li>-Carne senza odori estranei</li> <li>-Essenti da sabbia, muco e altre materie estranee</li> </ul>	<i>Le stesse caratteristiche della categoria extra</i>
<i>Aspetto del - gamberetto provvisto del carapace</i>	<i>Colore rosso chiaro-rosa con piccole chiazze bianche; parte pettorale del carapace in gran</i>	<i>Di colore dal rosso-rosa leggermente sbiadito al rosso bluastro con chiazze bianche;</i>

	-Essenti da sabbia, muco e altre materie estranee	
Aspetto del - gamberetto provvisto del carapace	Colore rosso chiaro-rosa con piccole chiazze bianche; parte pettorale del carapace in gran parte chiara	Di colore dal rosso-rosa leggermente sbiadito al rosso bluastro con chiazze bianche; parte pettorale del carapace dovrebbe essere di colore tenue tendente al grigio
- Gamberello boreale	Color rosa uniforme	Color rosa, ma con un possibile inizio di annerimento della testa
Aspetto della carne durante e dopo l'asportazione del carapace	- Agevole asportazione del carapace con solo perdite di carne tecnicamente inevitabili - Soda, non coriacea	- Asportazione meno agevole con piccole perdite di carne  Meno Soda, Leggermente Coriacea
Frammenti	Sono ammessi pochissimi frammenti di gamberetto	Ammesso un piccolo quantitativo di frammenti di gamberetti
Odore	Fresco di alghe marine, leggermente dolciastro	Acidulo, senza odore di alghe marine

## 2) Scampi

Criteri	Categorie di freschezza		
	Extra	A	B
Carapace	Colore rosa pallido o da rosa a rosso- arancio	Colore rosa pallido o da rosa a rosso-arancio; senza macchie nere	Leggera decolorazione: lieve macchia nera e colore tendente al grigio, soprattutto sul carapace e fra i segmenti della coda
Occhio e branchie	Occhio nero brillante; branchie color rosa	Occhio spento grigio-nero; branchie tendenti al grigio	Branchie grigio-scure o verdi sulla superficie dorsale del carapace
Odore	Caratteristico dei crostacei, delicato	Non piu' caratteristico, ma non ammoniacale	Lievemente acre
Carne(Coda)	Trasparente, bianco-azzurra	Non trasparente, ma non scolorita	Opaca e di aspetto spento

Una considerazione non secondaria, e che tocca da vicino la categoria professionale veterinaria, è quella che deriva dalle disposizioni finali, e più precisamente dall' articolo 12, che peraltro riprende in parte l' enunciato dell' art.11 del vecchio regolamento 33/89 laddove viene stabilito che " gli operatori del settore della pesca effettuano la classificazione per categorie di freschezza Extra , A o B e categoria di calibro, ricorrendo ad esperti designati a tal fine dalle organizzazioni professionali interessate"; qui la maggiore preoccupazione, a parere di chi scrive, è data dalla persistente apertura di un fronte su cui si misureranno interessi più che considerevoli. Nonostante infatti appaia chiaro a tutti che nell' epoca degli autocontrolli sia giusto arrivare ad una maggiore "laicità" in tutte le fasi ispettive, con una sempre maggiore responsabilizzazione da parte dei produttori, si avverte la necessità quantomeno di una maggiore chiarezza nella definizione di dette nuove figure, la cui formazione e competenza professionale resta almeno finora tutta da definire e da accreditare. E' importante, in quest'ottica, che la voce dei veterinari inseriti in questo importante settore produttivo non resti isolata e priva di ascolto.

Keywords: legislation, freshness, fish

RIASSUNTO: Nel corso degli ultimi anni la produzione delle derrate ittiche ha conosciuto uno sviluppo senza precedenti; in questo settore, l'assicurazione della qualità è un punto nodale ed in questo contesto l'elaborazione di criteri comuni per la determinazione dello stato di freschezza della materia prima è un presupposto di capitale importanza. L'autore esamina l'evoluzione della normativa inerente la valutazione della freschezza delle derrate ittiche, soffermandosi in particolar modo sul Regolamento n. 2406/96 di recente emanazione.

SUMMARY: During the last few years, there has been a great progress in fish products marketing; quality assurance, and freshness assessment in particular is a keystone for this share of the market. The Authors reviews the legislative evolution and the European regulation in force, particularly the EC Reg. 2406/96.

## BIBLIOGRAFIA

- Artioli D e Ciani G. (1954): Su uno schema razionale degli esami organolettici per la determinazione dello stato di freschezza del pesce (Teleostei marini). Riv. Med. Vet. Zoot., Vol. VI, n°6, 419-424.
- Civera, T. (1995): Accertamento dei requisiti di freschezza in alcune famiglie ittiche. Il Progresso Veterinario, 21, 714-715.
- Civera, T., Manzoni, P. (1993): Lezioni di igiene e controllo dei prodotti della pesca. Ed. CLU, Torino.
- Regolamento CEE 103/76, in Gazzetta Ufficiale delle Comunità Europee serie L n° 20 del 28/1/76.
- Regolamento CEE 33/ 89 del Consiglio del 5/1/89, in Gazzetta Ufficiale delle Comunità Europee serie L n°5 del 7/1/89.
- Decreto Legislativo 30/12/92, n.531. Supplemento Ordinario alla Gazzetta Ufficiale Serie Generale n° 7 del 11/1/93.
- Regolamento CE 2406/96 del Consiglio del 26/11/96, in Gazzetta Ufficiale delle Comunità Europee serie L n° 334 del 23/12/1996.
- Decisione della Commissione 95/149 CE, in Gazzetta Ufficiale delle Comunità Europee serie L n° 97 del 29/4/95.

# RILIEVI DI MACELLAZIONE, PROVE DI SEZIONAMENTO E COMPOSIZIONE CHIMICA DELLA CARNE DI DAINO (Dama dama) E DI CERVO (*Cervus elaphus*).\*

Summer A., Sussi C., Martuzzi F., Catalano A.L.

*Istituto di Zootecnica, Alimentazione e Nutrizione, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università di Parma. Direttore: Prof. A. Bonomi*

\*Ricerche effettuate con il contributo finanziario del M.U.R.S.T.

Si ringrazia la cooperativa Rinascita Montana di Nocera Umbra per la gentile collaborazione.

## Introduzione

In Italia gli allevamenti di ungulati selvatici costituiscono un'attività relativamente recente: i primi sorsero infatti all'inizio degli anni '80, quando le Regioni provvidero ad emanare le specifiche leggi (Salghetti, 1991; Rambotti, 1991). L'interesse per le carni di selvatici è oggi in forte crescita, sia perché esse sono viste come alternativa alle carni bovine ed ovine per alcuni aspetti qualitativi, sia perché l'allevamento di questi animali permette il recupero di vaste zone collinari e montane, nelle quali non è possibile esercitare attività agricole o zootecniche di tipo tradizionale (Fratoni, 1990; Cardinali e coll., 1990; Bigliardi, 1990). Il consumo di carne di selvatici in questi ultimi anni è progressivamente aumentato e recentemente ha avuto un notevole incremento a seguito del caso -B.S.E.» (Viliani, comunicazione personale). Infatti l'alimentazione assolutamente naturale di questi animali conferisce un'immagine di qualità e di genuinità alle loro carni, ottenute certamente senza impiego di additivi quali sostanze anabolizzanti e ormoni in particolare (Duranti e Casoli, 1994).

Le specie più frequentemente allevate sono il cervo ed il daino, in quanto ottimi convertitori di foraggi (Hofmann, 1984), anche i più grossolani, ed in grado di utilizzare le risorse naturali senza sprechi (Talamucci, 1990; Semiejadi, 1993; Casoli e coll., 1996). Questi animali si sono infatti evoluti coordinando le esigenze alimentari e le modalità di riproduzione in risposta alle variazioni della ricchezza dei pascoli (Ulyatt, 1973; Barry e coll., 1991; Barry e Wilson, 1994; Duranti e coll., 1991; Suttie e coll., 1992; Duranti e coll., 1993). Secondo i dati più recenti, forniti dalla Federation of European Deer Farmers Associations, in Italia sono presenti 400 allevamenti di cervidi con un totale di 12000 capi. L'80,2% degli allevamenti è di daini, il 13% di cervi ed il restante 6,8% di caprioli. Il 75% di questi allevamenti, quasi tutti di tipo semi-estensivo, si trova in Umbria ed in Toscana; di essi un centinaio ha la specifica finalità di produrre carne.

Per equiparare la produzione di carne di cervo e di daino a quella delle altre specie è necessario acquisire maggiori conoscenze sulle produzioni, in senso sia qualitativo che quantitativo. Si è quindi cercato di valutare la produzione di carne di queste due specie, effettuando prove di macellazione, sezionatura e spolpo della carcassa, nonché analisi chimiche su tagli campione.

## Materiali e metodi

L'indagine è stata condotta presso il macello della cooperativa Rinascita Montana di Nocera Umbra, in provincia di Perugia, su 81 daini (Dama dama) e 77 cervi (*Cervus elaphus*), di età compresa fra i 6 mesi e i 5 anni. I daini provenivano da tre aziende situate nelle province di Bologna e Perugia, mentre i cervi da tre allevamenti ubicati nelle province di Bologna, Parma e Perugia; tutti gli allevamenti erano di tipo semi-estensivo. Il gruppo dei daini, composto da 49 maschi e 32 femmine, è stato suddiviso in quattro classi di età: 6 soggetti di 6 mesi, 50 di 18 mesi, 16 di 24 mesi e 9 di età pari o superiore ai 36 mesi. Il gruppo dei cervi, composto da 33 maschi e 44 femmine, essendo costituito da animali più omogenei in rapporto all'età (rientravano tutti nella classe dei 18 mesi, eccezion fatta per la presenza di 4 soggetti adulti di età uguale o superiore ai 36 mesi, e di uno di 6 mesi) è stato suddiviso in 3 classi.

I soggetti, catturati nei rispettivi allevamenti e successivamente trasportati al macello, sono giunti tutti in buone condizioni di salute. Gli animali sono rimasti nelle stalle di sosta per due giorni, quindi sono stati abbattuti a distanza mediante carabina. Il peso dell'animale appena abbattuto (PV) è stato considerato sostitutivo del peso vivo stallato. Dopo la pesatura, mediante bilancia elettronica sospesa, i soggetti sono stati iugulati; quindi si è proceduto al distacco della parte distale degli arti in corrispondenza dell'articolazione carpo-metacarpica e tarso-metatarsica ed alla scuoiatura. Successivamente si è provveduto alla asportazione dei visceri addominali, alla separazione della corata e, in corrispondenza dell'articolazione occipito-atlantoidea, della testa.

Sulla carcassa così ottenuta, posta in cella frigorifera per 24 ore a +4°C, si è rilevato il peso morto (PM) e quindi si è effettuata la sezionatura. Si è proceduto quindi al calcolo della resa in carcassa a freddo, data dal rapporto percentuale tra PM e PV.

Le due mezzene, dopo l'asportazione del rene e del grasso perirenale, sono state sezionate secondo i seguenti tagli commerciali: collo, costine, lombo, pancetta-punta petto, spalla e coscio (ASPA, 1991). Fatta eccezione per la lombata e le costine, che vengono vendute con la porzione ossea, le altre parti sono state spolpate. Nelle tabelle vengono riportati i dati relativi alle rese dei diversi tagli senza l'osso. I singoli tagli, in virtù del loro valore economico, sono classificabili in tagli di prima qualità (coscio e spalla), di seconda qualità (costine e lombo) e di terza qualità (collo, pancetta-punta petto).

La dissezione e lo spolpo delle mezzene sono stati effettuati su:

- 16 daini maschi dei quali 6 adulti, 6 di 24 e 4 di 18 mesi;
- 16 cervi maschi dei quali 2 adulti e 14 di 18 mesi.

Inoltre, per entrambe le specie, dalle carcasse di 5 maschi di 18 mesi sono stati prelevati altrettanti campioni di muscolo dalla regione del collo in porzione distale, per la determinazione della composizione chimica e del contenuto in macro e micro elementi minerali (Ca, Mg, Na, K, Fe, Zn, Cu, Mn in spettrofotometria ad assorbimento atomico e P per via colorimetrica). Le metodiche analitiche adottate sono quelle riportate da AOAC (1984). I dati sono stati elaborati separatamente per le due specie animali. I fattori presi in considerazione nel modello relativamente alle prove di macellazione sono stati l'età (quattro livelli per i daini e tre per i cervi) ed il sesso; per le prove di spolpo è stata considerata l'età. Sui dati rilevati, alla macellazione ed allo spolpo, è stata effettuata l'analisi statistica della significatività dei fattori mediante ANOVA e valutata la differenza tra le medie tramite il calcolo della differenza minima significativa (Statgraphics, 1993).

## Risultati e discussione

a) Rilievi alla macellazione relativi ai daini - Sono riportati nella tabella 1 i rilievi alla macellazione dei soggetti suddivisi per età. Dall'osservazione dei parametri considerati emerge che le differenze di PV e di PM sono risultate altamente significative tra le quattro classi di età ( $P \leq 0.0001$ ). La resa in carcassa a freddo in % su PV risulta maggiore nei soggetti appartenenti alle classi di età di 18 e 24 mesi (56.13% e 56.01% rispettivamente), con differenze statisticamente significative ( $P \leq 0.01$ ) nei confronti dei soggetti di 6 e  $\geq 36$  mesi (53.59% e 54.14% rispettivamente). Da ciò emerge che l'età più favorevole per la macellazione è compresa fra 18 e 24 mesi. I risultati concordano con quelli riportati da Casoli e Duranti (1984), anche se la suddivisione in classi di età non è perfettamente sovrapponibile; mentre non sono in accordo con quelli di Giorgetti e coll. (1984) e Duranti e coll. (1997) che hanno riscontrato rese a freddo molto più elevate. Difficile, invece, il confronto con i dati riportati da Casoli e coll. (1986) che suddividono il campione in classi di età completamente diverse.

Tabella 1 - Rilievi alla macellazione sui daini (media  $\pm$  errore standard): effetto dell'età di macellazione.

Età mesi	n° soggetti	PV kg	PM kg	Resa in carcassa a freddo in % su PV
6	6	21.90 $\pm$ 2.05 A	11.75 $\pm$ 1.24 A	53.59 $\pm$ 0.79 a
18	50	34.99 $\pm$ 0.71 B	19.66 $\pm$ 0.43 B	56.13 $\pm$ 0.27 b
24	16	46.33 $\pm$ 1.31 C	25.96 $\pm$ 0.79 C	56.01 $\pm$ 0.50 b
$\geq 36$	9	58.76 $\pm$ 1.78 D	31.81 $\pm$ 1.08 D	54.14 $\pm$ 0.68 a
DSE		4.99	3.01	1.90

A, B, C, D diversi per  $P \leq 0.0001$  ; a, b diversi per  $P \leq 0.01$

L'effetto del sesso è risultato significativo sul PV e sul PM, con valori maggiori nei maschi nei confronti delle femmine ( $P \leq 0.05$ ); mentre non ha influito significativamente sulla resa in carcassa a freddo, che comunque è leggermente superiore nei maschi (Tab. 2).

Tabella 2 - Rilievi alla macellazione sui daini (media  $\pm$  errore standard): effetto del sesso.

Sesso	n° soggetti	PV kg	PM kg	Resa in carcassa a freddo in % sul PV
M	49	41.83 $\pm$ 0.86 b	23.07 $\pm$ 0.53 b	55.04 $\pm$ 0.33
F	32	39.16 $\pm$ 1.11 a	21.51 $\pm$ 0.67 a	54.90 $\pm$ 0.43
DSE		4.99	3.01	1.90

a, b, diversi per  $P \leq 0.05$

Nella tabella 3 sono riportati i valori relativi alle rese dei singoli tagli. La resa del coscio è risultata inferiore ( $P \leq 0.01$ ) nei soggetti di età uguale o superiore ai 36 mesi (27.62%), nei confronti dei soggetti di 18 e 24 mesi, che sono caratterizzati, tra l'altro, da valori omogenei (31.44% e 30.77%). La resa del collo è risultata essere inferiore ( $P \leq 0.05$ ) nei soggetti di 18 mesi (2.12%) rispetto ai gruppi di età di 24 e  $\geq 36$  mesi (3.17% e 3.59%). Per quanto riguarda i tagli di prima qualità, è stata riscontrata una resa maggiore ( $P \leq 0.05$ ) nei soggetti di 18 e di 24 mesi rispetto a quelli di età uguale o superiore a 36 mesi (44.78% e 44.59% vs 41.32%). Riguardo la resa in costolette, i soggetti di 24 mesi hanno presentato valori più elevati rispetto agli altri due gruppi, anche se la differenza non è statisticamente significativa ( $P > 0.05$ ).

Tabella 3 - Rilievi al sezionamento sui daini (media  $\pm$  errore standard): effetto dell'età di macellazione.

Età $\rightarrow$ mesi	18	24	$\geq 36$	DSE
<i>in % su mezzena dx:</i>				
Coscio	31.44 $\pm$ 0.70 B	30.77 $\pm$ 0.90 B	27.62 $\pm$ 0.90 A	1.39
Spalla	13.34 $\pm$ 0.55	13.82 $\pm$ 0.71	13.71 $\pm$ 0.71	1.11
Lombo	21.90 $\pm$ 0.83	24.32 $\pm$ 1.08	22.77 $\pm$ 1.08	1.67
Costolette	9.84 $\pm$ 0.42	10.86 $\pm$ 0.54	9.67 $\pm$ 0.54	0.84
Pancetta - punta petto	3.30 $\pm$ 0.17	3.21 $\pm$ 0.22	2.87 $\pm$ 0.23	0.35
Collo	2.12 $\pm$ 0.26 a	3.17 $\pm$ 0.34 b	3.59 $\pm$ 0.34 b	0.52
Tagli 1 <sup>a</sup> qualità	44.78 $\pm$ 1.03 b	44.59 $\pm$ 1.34 b	41.32 $\pm$ 1.34 a	2.07
Tagli 2 <sup>a</sup> qualità	31.74 $\pm$ 1.09	35.17 $\pm$ 1.42	32.44 $\pm$ 1.42	2.19
Tagli 3 <sup>a</sup> qualità	5.43 $\pm$ 0.25	6.38 $\pm$ 0.32	6.46 $\pm$ 0.32	0.49

A, B significativamente differenti per  $P \leq 0.01$ ; a, b significativamente differenti per  $P \leq 0.05$

b) Rilievi alla macellazione relativi ai cervi - L'allevamento di provenienza, pur essendo di tipo semi-estensivo, ha determinato differenze tra gli animali. Infatti, gli otto soggetti provenienti dall'allevamento nei pressi di Parma erano caratterizzati da PV e da PM notevolmente superiori rispetto alla media degli altri; tuttavia la loro resa concordava con quella media rilevata. Ciò potrebbe dipendere dal fatto che l'allevamento di Parma è sorto solo da pochi anni ed i suoi pascoli, essendo stati poco sfruttati, sono molto più ricchi rispetto a quelli degli altri allevamenti esistenti ormai da molto più tempo.

Nella tabella 4 sono raccolti i rilievi alla macellazione delle tre classi di età prese in considerazione. Nell'analisi statistica è stata esclusa la classe di età di 6 mesi, rappresentata da un unico soggetto; le differenze del PV e del PM riscontrate tra le altre due classi (18 e  $\geq 36$  mesi) sono risultate significative ( $P < 0.001$ ); la resa a freddo ha dato valori, nei soggetti delle classi di 18 e  $\geq 36$  mesi, di 56.44% e 56.86% rispettivamente ( $P > 0.05$ ). Lazzaroni e Quaglia (1992) riportano per i cervi una resa media a caldo di circa il 61%.

Tabella 4 - Rilievi alla macellazione sui cervi (media  $\pm$  errore standard): effetto dell'età di macellazione.

Età	n° soggetti	PV kg	PM kg	Resa in carcassa a freddo in % sul PV
6	1	37.67	18.92	49.30
18	72	60.44 $\pm$ 1.20 A	34.05 $\pm$ 0.66 A	56.44 $\pm$ 0.25
$\geq 36$	4	79.25 $\pm$ 5.20 B	45.05 $\pm$ 2.87 B	56.86 $\pm$ 1.00
DSE		10.11	5.57	2.06

A, B diversi per  $P \leq 0.001$ ;

Il sesso incide in maniera altamente significativa ( $P \leq 0.0001$ ) sul PV e sul PM, mentre analogamente a quanto visto per i daini, influenza in modo non significativo la resa a freddo che risulta solo leggermente superiore nelle femmine (Tab. 5).

Tabella 5 - Rilievi alla macellazione sui cervi (media  $\pm$  errore standard): effetto del sesso.

Sesso	n° soggetti	PV kg	PM kg	Resa in carcassa a freddo in % sul PV
M	33	65.78 $\pm$ 4.30 B	36.20 $\pm$ 2.37 B	53.82 $\pm$ 0.88
F	44	52.45 $\pm$ 3.81 A	29.16 $\pm$ 2.10 A	54.58 $\pm$ 0.78
DSE		10.11	5.57	2.06

A, B diversi per  $P \leq 0.0001$

Nella tabella 6 sono riportate le rese dei singoli tagli di soggetti di 18 e  $\geq 36$  mesi. Da essa risulta evidente come i soggetti adulti presentino rese significativamente maggiori per quanto riguarda i tagli pancetta-punta petto (3.63% vs 3.01%;  $P \leq 0.05$ ) e collo (3.51% vs 2.35%;  $P \leq 0.001$ ); di conseguenza si riscontrano nei medesimi soggetti rese maggiori in tagli di terza qualità (7.14% vs 5.36%;  $P \leq 0.01$ ).

Tabella 6 - Rilievi al sezionamento sui cervi (media  $\pm$  errore standard):  
effetto dell'età di macellazione.

Età → mesi	18	$\geq 36$	DSE
<i>in % su mezzena dx :</i>			
Coscio	29.16 $\pm$ 0.27	28.84 $\pm$ 0.77	1.01
Spalla	12.55 $\pm$ 0.53	13.08 $\pm$ 1.49	1.96
Lombo	22.40 $\pm$ 0.52	23.22 $\pm$ 1.44	1.91
Costolette	12.27 $\pm$ 0.52	12.46 $\pm$ 1.46	1.93
Pancetta - punta petto	3.01 $\pm$ 0.10 <i>a</i>	3.63 $\pm$ 0.27 <i>b</i>	0.36
Collo	2.35 $\pm$ 0.08 <i>A</i>	3.51 $\pm$ 0.22 <i>B</i>	0.29
Tagli 1 <sup>a</sup> qualità	41.71 $\pm$ 0.66	41.92 $\pm$ 1.86	2.46
Tagli 2 <sup>a</sup> qualità	34.66 $\pm$ 0.64	35.69 $\pm$ 1.79	2.37
Tagli 3 <sup>a</sup> qualità	5.36 $\pm$ 0.15 <i>a</i>	7.14 $\pm$ 0.42 <i>b</i>	0.55

A, B significativamente differenti per  $P \leq 0.001$ ;

a, b significativamente differenti per  $P \leq 0.01$

*a, b* significativamente differenti per  $P \leq 0.05$

c) Rilievi sulla composizione chimica delle carni - Nella tabella 7 sono riportati i dati relativi alla composizione chimica ed al contenuto medio in elementi minerali delle ceneri di campioni di carne, prelevati dalla regione del collo di carcasse di 5 daini di 24 mesi e di 5 cervi di 18 mesi. Rispetto ai valori trovati in letteratura (Casoli e coll., 1986; Poli e Ponzetta, 1994; Casoli e coll., 1997) si è riscontrata una maggior percentuale in lipidi e, in particolare per quanto riguarda i daini, un contenuto medio più elevato di ferro, zinco e magnesio.

Tabella 7 - Composizione chimica della carne di daino e di cervo sul tal quale e contenuto in macro e micro elementi minerali (media  $\pm$  deviazione standard).

n° campioni →		Daino 5	Cervo 5
Umidità	%	73.71 $\pm$ 2.94	73.31 $\pm$ 2.57
Ceneri	%	1.03 $\pm$ 0.12	1.06 $\pm$ 0.11
Proteine	%	21.48 $\pm$ 1.32	22.60 $\pm$ 1.38
Grasso	%	3.08 $\pm$ 2.64	3.85 $\pm$ 2.51
Ca	g/kg	0.06 $\pm$ 0.02	0.05 $\pm$ 0.01
P	g/kg	1.82 $\pm$ 0.17	1.85 $\pm$ 0.17
Mg	g/kg	1.78 $\pm$ 0.33	1.62 $\pm$ 0.09
Na	g/kg	0.88 $\pm$ 0.07	0.77 $\pm$ 0.09
K	g/kg	3.02 $\pm$ 0.16	3.21 $\pm$ 0.26
Fe	mg/kg	33.52 $\pm$ 8.93	29.94 $\pm$ 5.85
Zn	mg/kg	55.41 $\pm$ 12.62	51.38 $\pm$ 3.40
Cu	mg/kg	2.14 $\pm$ 0.32	2.16 $\pm$ 0.44
Mn	mg/kg	0.21 $\pm$ 0.05	0.26 $\pm$ 0.05

## Conclusioni

Le prove effettuate hanno messo in luce l'importanza dell'età alla macellazione nella valutazione delle caratteristiche della carcassa e della resa alla sezionatura del daino e del cervo.

Tra i parametri presi in esame per la valutazione della carcassa, sono risultati interessanti la resa a freddo e in tagli pregiati della stessa, in particolare dei soggetti di 18 e di 24 mesi per quanto riguarda i daini. Per i cervi sono emerse differenze significative riguardo i tagli di terza qualità, la resa dei quali è risultata superiore negli adulti rispetto ai soggetti di 18 mesi.

I rilievi effettuati per determinare la qualità della carne di daino e di cervo hanno messo in evidenza il loro buon valore dietetico, soprattutto se la composizione delle stesse viene confrontata con quella di altre specie animali (tabella 8).

Tabella 8 - Confronto del contenuto in proteine, lipidi e umidità sul tal quale in diverse specie animali.

Specie	Proteine %	Lipidi %	Umidità %	Autori
Cervo	22.6	3.8	73.5	Presente ricerca
Daino	21.5	3.0	73.5	
Vitellone	21.3	3.1	72.0	Duranti e coll., 1997
Suino	20.0	7.9	71.0	
Agnello	20.0	4.6	73.0	
Coniglio	20.0	4.0	74.0	
Pollo	19.9	3.6	74.0	
Tacchino	21.0	6.8	72.0	
Cavallo	21.2	5.4	72.1	Catalano, 1984
Puledro da latte	21.0	1.5	75.0	

Data l'importanza che l'argomento sta assumendo è quanto mai auspicabile una continuazione ed un approfondimento delle ricerche.

Parole chiave: daino, cervo, caratteristiche carcassa, qualità carne.  
Key words: fallow deer, red deer, carcass characteristics, meat quality.

RIASSUNTO - L'indagine è stata svolta su 81 daini (49 maschi e 32 femmine) e 77 cervi (33 maschi e 44 femmine) di età compresa tra i 6 mesi ed i 5 anni. Sono state effettuate prove di macellazione, sezionatura ed analisi chimiche delle carni. I daini sono stati raggruppati in 4 classi di età: 6, 18, 24 e 36 mesi. La resa a freddo in percentuale sul peso vivo è risultata: 53.59, 56.13, 56.01 e 54.14, rispettivamente. I risultati migliori si sono avuti nei soggetti di età compresa tra 18 e 24 mesi, in particolare la resa in coscio (31.44 e 30.77) ed in tagli di prima qualità (44.78 e 44.59). La resa a freddo dei cervi, suddivisi in 3 classi di età: 6, 18 e 36 mesi, è stata 49.30, 56.44 e 56.86, rispettivamente. Dalle analisi chimiche delle carni si è riscontrato un buon contenuto in proteine ed un ridotto contenuto in lipidi in entrambe le specie.

SUMMARY - Slaughter data, dissection tests and chemical composition of fallow deer (*Dama dama*) and red deer (*Cervus elaphus*) meat. The study was made on 81 fallow deer (49 bucks and 32 does) and 77 red deer (33 stags and 44 hinds) at ages varying from 6 months to 5 years. Slaughter tests were carried out with carcass dissection and chemical analyses of meat. The fallow deer were formed into 4 age groups: 6, 18, 24 and 36 months old. The dressing percentage (calculated as chilled carcass/live weight) was: 53.59, 56.13, 56.01 and 54.14, respectively. The best results about top quality cuts are found in subjects aged between 18 and 24 months (% on right side: thigh 31.44 and 30.77; first quality joints 44.78 and 44.59). About red deer, formed into 3 age groups: 6, 18 and 36 months, the dressing percentage found was: 49.30, 56.44 and 56.86, respectively. The chemical analyses of meat found out a good protein content and a little fat content in both species. Si ringrazia la cooperativa Rinascita Montana di Nocera Umbra per la gentile collaborazione.

## BIBLIOGRAFIA

- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (1984) - Official methods of analysis. A.O.A.C., Arlington, Virginia, U.S.A.
- ASPA (1991) - Metodologie relative alla macellazione degli animali di interesse faunistico e venatorio e alla valutazione e dissezione della loro carcassa. ISMEA - ROMA.
- BARRY T.N., SUTTIE J.M., MILNE J.A., KAY R.N.B. (1991) - Control of food intake in domesticated deer. *Physiological Aspects of Digestion and Metabolism in Ruminants* (Eds. T. Tsuda, Y. Sasaki, R. Kawashima), 385-401. San Diego, Academic Press.
- BARRY T.N., WILSON P.R. (1994) - Venison production from farmer deer. *Journal of Agricultural Science, Cambridge*, 123, 159-165.
- BIGLIARDI E. (1990) - Ungulati selvatici e agriturismo. Un'azienda per Bardi. Anagritur, Cusl, Bologna.
- CARDINALI A., CASOLI C., DURANTI E. (1990) - Pascolo per daini (*Dama dama*): aspetti agronomici e valore nutritivo di un cotico naturale in una collina umbra. *Atti Conv. «Allevamenti di selvaggina a scopo alimentare»*, 12, 205-216. Bastia Umbra (Pg).
- CASOLI C., DURANTI E., BUTTAZZO C., DONNINI D. (1996) - Utilizzazione del pascolo da parte di femmine di daino (*Dama dama*) in accrescimento. *Atti della Società Italiana delle Scienze Veterinarie*, 50, 597-598.

- CASOLI C., DURANTI E. (1984) - Ulteriore contributo sull'utilizzazione zootecnica delle aree marginali con daini (Dama dama): rilievi alla macellazione e caratteristiche quali-quantitative della carne. Atti Conv. «Allevamenti di selvaggina a scopo alimentare», 5, 112-118. Bastia Umbra (PG).
- CASOLI C., DURANTI E., RAMBOTTI F. (1986) - Rilievi alla macellazione e caratteristiche quanti-qualitative della carne di daino (Dama dama). Zoot. Nutr. Anim., 12, 411-422.
- CATALANO A.L. (1984) - Valutazione morfo-funzionale del cavallo. Igiene ed etnologia. Goliardica Editrice, Noceto (PR).
- DURANTI E., Cardinali A., Casoli C., Mehrabi H. (1991) - Metodi di stima della produttività foraggera e della capacità di ingestione in daini (Dama dama) allevati in ambiente confinato. Atti Conv. Europeo «Allevamenti di selvaggina», 1, 287-303.
- DURANTI E., CASOLI C. (1994) - La produzione di carne di daino (Dama dama) allevato in ambiente confinato. Atti Conv. «Allevamenti di selvaggina a scopo alimentare», 16, 45-62.
- DURANTI E., CASOLI C., MARTILLOTTI F., TERRAMOCCIA S., MORGANTE M., PAUSELLI M. (1993) - Caratteristiche del pascolo e comportamento alimentare di daini (Dama dama) maschi in accrescimento. Atti Simp. Int. Zootecnica, 28, 233-242.
- DURANTI E., CASOLI C., COLI R., RAMBOTTI F. (1997) - Carne di daino: una produzione che merita attenzione. L'Informatore Agrario, 12, 67-70. Fratoni F. (1990) - L'allevamento dei cervidi in alcuni Paesi Europei. Atti Conv. «L'allevamento degli ungulati selvatici nelle aree marginali», 11-25.
- GIORGETTI A., LUCIFERO M., CAMPODONI G., ZAPPA A., POLI B.M., LUPI P., FRANCI O., GUALTIERI M. (1984) - Caratteristiche di macellazione e di sezionatura della carcassa di daino (Dama dama). Atti Conv. «Allevamenti di selvaggina a scopo alimentare», 5, 207-213. Bastia Umbra (Pg).
- HOFMANN R.R. (1984) - L'adattamento dell'apparato digerente nei cervi (Cervus elaphus). Atti Conv. «Allevamenti di selvaggina a scopo alimentare», 5, 213-219. Nocera Umbra (PG).
- LAZZARONI C., Quaglia L. (1992) - Prove di valutazione delle carcasse di cervo rosso (Cervus elaphus) tramite misure sulle carcasse e dissezione anatomica. Atti Conv. «Allevamenti di selvaggina a scopo alimentare», 14, 181-190. Nocera Umbra (PG).
- POLI B.M., PONZETTA M.P. (1994) - Studio su consumi, capacità selettive e digestive e fabbisogni nutritivi in daini (Dama dama) adulti e di un anno di età. Atti della Società Italiana delle Scienze Veterinarie, 48, 1637-1641.
- RAMBOTTI F. (1991) - Allevamenti di ungulati selvatici. Atti Conv. «Allevamenti di selvaggina a scopo alimentare», 13, 23-27. Bastia Umbra (PG).
- SALGHETTI A. (1991) - Elementi strutturali ed economici degli allevamenti di ungulati selvatici in Italia. Ann. Fac. Med. Vet., Università di Parma, 11, 87-156.
- SEMIADI G., Barry T.N., Wilson P.R., Hodgson J., Purchas R.W. (1993) - Growth and venison production from red deer (Cervus elaphus) grazing red clover (Trifolium pratense) or perennial ryegrass (Lolium perenne) white clover (Trifolium repens) pasture. Journal of Agricultural Science, Cambridge, U.K., 121, 265-271.
- STATGRAPHICS (1993) - User manual. Manugistics, Inc. Rockville, Maryland, U.S.A.
- SUTTIE J.M., CORSON I.D., WEBSTER J.R., WOODFOR K.B. (1992) - Photoperiodism and growth. In Proceedings of a Deer Course for Veterinarians, Deer Branch NZVA, 9, 136-142 (Ed. P.R. Wilson) New Zealand, Massey University.
- TALAMUCCI P., BIAGIOLI O., CARDINALI A., CASANOVA P., CIANI F., DURANTI E., FRATONI F., GIORGETTI A. (1990) - Proposta di metodologia per la valutazione delle disponibilità alimentari per ungulati selvatici. Atti Conv. «Allevamenti di selvaggina a scopo alimentare», 12, 27-44. Bastia Umbra (PG).
- ULYATT M.J. (1973) - The feeding value of herbage. In Chemistry and Biochemistry of herbage, 3 131-178 (Eds G.W. Butler & R.W. Bailey) London, Academic Press.

# EFFETTI DELL'ASSOCIAZIONE DI LISOLECITINA E LIPASI SUI PARAMETRI PRODUTTIVI DI VITELLA A CARNE BIANCA.\*

Sabbioni A.<sup>1</sup>, Superchi P.<sup>1</sup>, Bonomi A.<sup>1</sup>, Bonomi B.M.<sup>1</sup>, Taglietti P.<sup>1</sup>, Passeri B.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Istituto di Zootecnica, Alimentazione e Nutrizione, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università di Parma. Direttore: Prof. A. Bonomi.*

<sup>2</sup>*Istituto di Anatomia Patologica Veterinaria, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università di Parma. Direttore: Prof. E. Cabassi.*

\*Ricerche effettuate con il contributo finanziario del M.U.R.S.T.

## Introduzione

E' noto che nei lattici ricostituiti per vitelli a carne bianca, in virtù dell'alto livello di grassatura, è necessario fare ricorso ad emulsionanti, al fine di migliorare, da un lato, la dispersione in acqua e, dall'altro, la digeribilità e la disponibilità metabolica della frazione lipidica. La sostanza emulsionante, cui generalmente si fa ricorso, è rappresentata dalla lecitina di soia (1), costituita da una miscela di fosfolipidi, fra i quali primeggia la lecitina; l'azione emulsionante deriva dalla contemporanea presenza di gruppi polari, accanto alle catene idrofobiche degli acidi grassi. Un suo derivato, la lisolecitina, è caratterizzata da una più spiccata azione emulsionante, in virtù della sostituzione di un acido grasso con un gruppo ossidrilico (2).

Una categoria di sostanze con azione emulsionante indiretta è rappresentata dalle lipasi, le quali, idrolizzando i grassi neutri mediante il distacco di un acido grasso, producono composti intermedi, rappresentati da di- e monogliceridi, in grado di abbassare la tensione superficiale (2). L'introduzione delle biotecnologie ha fortemente incrementato la possibilità di produrre tali enzimi a basso costo e in quantità compatibili con l'impiego in allevamento quali supplementi alimentari. Alla luce di queste considerazioni e delle risultanze di prove precedenti, relative all'impiego della lisolecitina nell'alimentazione di suinetti in svezzamento (3) e di vitelli a carne bianca (4) e della lipasi nell'alimentazione di vitelli a carne bianca (5) e di scrofe in lattazione (6), abbiamo programmato la prova in oggetto, con lo scopo di valutare gli effetti di una associazione fra le due sostanze.

## Materiali e metodi

La prova è stata condotta, presso una azienda della provincia di Brescia, su 80 vitelli maschi di razza Frisona italiana, allevati in box singoli e suddivisi in quattro gruppi omogenei di 20 soggetti ciascuno, contrassegnati con le lettere A, B, C e D. Gli animali, di identica provenienza, erano giunti in allevamento agli inizi del mese di marzo, con un peso vivo medio di kg 43,8. Per un periodo di 105 d, essi sono stati alimentati con lo stesso latte ricostituito, quindi ha fatto seguito la fase sperimentale vera e propria che ha avuto una durata di 78 d, fino cioè al raggiungimento del peso vivo di macellazione. Mentre ai soggetti del gruppo 'A', considerati di controllo, è stato riservato un latte ricostituito del commercio, a quelli dei gruppi 'B', 'C', 'D' è stato fornito lo stesso latte, addizionato, rispettivamente, di lisolecitina (2 g/capo/d), di lipasi (5800 U/capo/d) e di lisolecitina + lipasi (1 g + 2900 U/capo/d). L'attività lipasica è stata valutata utilizzando come substrato la tributirina.

L'aggiunta delle sostanze al latte ricostituito veniva effettuata al momento della preparazione del latte liquido, mediante il ricorso ad un prodotto del commercio, per quanto attiene la lisolecitina (4), e ad una preparazione pura con attività pari a 4400 U/g, con riferimento alla lipasi.

Nel latte ricostituito del commercio, la cui composizione chimica è riportata nella tabella n.1, hanno trovato posto latte magro in polvere, sottoprodotti della lavorazione del latte e grassi animali e vegetali emulsionati con lecitina di soia. Il piano alimentare adottato durante la fase sperimentale vera e propria prevedeva la somministrazione iniziale di 3200 g/d di polvere di latte, con scatti di 100 g/settimana fino a 3400 g/d e il mantenimento di tale quantità fino alla fine del ciclo (13 pasti settimanali ; 2 pasti con dosi dimezzate). La quantità di latte liquido è stata di 20 l/d (tasso di concentrazione dal 16% al 17%).

Tabella n.1 - Composizione chimica centesimale del latte ricostituito.

Umidità	%	4,15
Ceneri gregge	%	6,54
Proteina greggia	%	23,08
Grassi greggi	%	21,85
Cellulosa greggia	%	0,19
Estrattivi inazotati	%	44,19

I rilievi effettuati su ogni singolo vitello hanno riguardato :

- a) - il peso vivo all'inizio e alla fine della fase sperimentale;
- b) - il consumo di latte;
- c) - i parametri di macellazione (due sedute distinte, su 30 e su 50 soggetti), comprendenti il peso della carcassa a caldo e a freddo e la stima, effettuata da esperti, della conformazione, secondo la griglia CEE (EUROP) (7).

Inoltre, su 5 soggetti scelti a caso nell'ambito di ciascun gruppo, in corrispondenza delle pesate, si è proceduto al prelievo di sangue, dalla vena giugulare, e di feci, direttamente dall'ampolla rettale, per la valutazione :

- a) - del tenore in glucosio, urea, colesterolo (totale, HDL e LDL), trigliceridi, NEFA e lipidi totali del sangue, effettuando il prelievo in provette sotto vuoto senza anticoagulante. I campioni sono stati immediatamente refrigerati e centrifugati entro due ore dal prelievo. Dopo la centrifugazione sono stati suddivisi in aliquote ed immediatamente congelati fino al momento delle analisi, condotte utilizzando metodi colorimetrici con kit del commercio (Biochemia Boehringer) ;
- b) - dei valori relativi al grasso totale, ai grassi neutri, ai saponi e agli acidi grassi delle feci, al fine di stimare la digeribilità della frazione lipidica del latte, utilizzando la metodica descritta da Varley (8).

Alla macellazione è stato prelevato, da ciascun animale, un campione di grasso perirenale, cercando di asportare una porzione di circa 100 g di tessuto, sempre nella medesima posizione. Su tali campioni, fissati in formalina e successivamente processati con routinarie tecniche istologiche, sono state effettuate misure morfometriche (diametro medio degli adipociti), mediante analisi di immagine computerizzata (Image Pro-Plus ; Media Cybernetics, USA).

I dati sono stati elaborati con l'analisi della varianza e della covarianza, utilizzando i seguenti modelli lineari (9):

- a) - per i parametri relativi al peso vivo dei vitelli:

$$y_{ij} = m + G_i + b_1 x_{ij} + e_{ij} \text{ ove } y_{ij} = \text{singola osservazione};$$

$m$  = media generale;

$G_i$  = effetto fisso del gruppo di appartenenza ( $i= 1, \dots, 4$ );

$b_1$  = coefficiente di regressione con il peso vivo iniziale ( $x_{ij}$ );

$e_{ij}$  = errore casuale residuo;

- b) - per i parametri relativi agli incrementi ponderali e al diametro degli adipociti:

$$y_{ij} = m + G_i + e_{ij}$$

- c) - per i parametri relativi ai rilievi effettuati su sangue e feci :

$y_{ij} = m + G_i + b_1 x_{ij} + \alpha_{ij} + e_{ij}$  ove  $\alpha_{ij}$  = effetto casuale dell'animale entro gruppo;

d) - per i rilievi di macellazione:

$y_{ijk} = m + G_i + M_j + e_{ijk}$

ove  $M_j$  = effetto fisso della seduta di macellazione ( $j=1,2$ ).

## Risultati e conclusioni

La tabella n.2 riporta i risultati dei rilievi effettuati durante la fase di allevamento. L'esame della tabella permette di rilevare che i vitelli alimentati con lisolectina (gruppo B) hanno messo in luce pesi vivi finali e incrementi ponderali giornalieri significativamente ( $P < 0,10$ ) più elevati dei controlli (risp. +3,9% e +8,8%).

Tabella n. 2 - Prestazioni produttive dei vitelli (medie stimate)

Gruppo		A	B	C	D	DSR
P.v. iniziale	kg	149.23	145.58	153.58	150.85	11.90
P.v. finale	kg (*)	249.36 A	259.18 B	254.35 AB	253.37 AB	12.57
IPG	g/d	1213 A	1320 B	1289 AB	1267 AB	158
Consumo di latte in plv.	Kg/d	2.797 A	2.890 B	2.812 AB	2.876 AB	0.137
ICA	g latte/g	2.38 B	2.20 A	2.20 A	2.29 AB	0.28

(\*) valori covariati con il p.v. iniziale.  
A,B :  $P < 0,10$ .

Questo reperto non collima con quanto da noi rilevato in precedenza (4), sempre operando su vitelli a carne bianca, nei quali la lisolectina aveva avuto un effetto significativo sull'accrescimento solo nelle fasi iniziali del ciclo di allevamento. Per gli altri gruppi, le differenze con i controlli, pur positive (risp. +2,0% e +6,3% per il gruppo C e +1,6% e +4,3% per il gruppo D) non hanno raggiunto la significatività statistica ( $P > 0,10$ ). I migliori indici di conversione sono stati raggiunti dai gruppi B e C, rispetto al gruppo A, mentre l'associazione di lisolectina e lipasi ha determinato un comportamento intermedio. Nessuna differenza fra i gruppi si è avuta per le rese al macello e per la conformazione delle carcasse (tabella n.3).

Tabella n.3 - Rilievi di macellazione (medie stimate)

Gruppo		A	B	C	D	DSR
p.v. stallato	kg (*)	242.13 A	251.39 B	245.49 AB	244.84 AB	11.59
peso carcassa						
- a caldo	kg	143.81	149.03	152.69	149.03	12.27
- a freddo	kg	140.91	146.03	149.69	146.03	12.16
Resa :						
- a caldo	%	59.52	60.15	60.37	59.95	2.65
- a freddo	%	58.32	58.93	59.18	58.73	2.61
Conf. EUROP (**)		7.76	7.58	7.84	7.39	0.75
Diametro adipociti	µm	60.08b	57.45a	57.35a	58.10a	19.41

(\*) valori covariati con il p.v. iniziale.

(\*\*) : 1=P-.....15=E+.

a,b :P<0,01 ; A,B :P<0,10.

Rispetto ai controlli, i soggetti trattati con lisolecitina, lipasi o entrambe le sostanze hanno mostrato un più ridotto diametro degli adipociti (P<0.01). Questo reperto, limitatamente alla lisolecitina, conferma quanto già riportato in precedenza (4), e fornisce una possibile chiave interpretativa circa il meccanismo d'azione della molecola.

Per quanto riguarda gli effetti della lisolecitina e della lipasi, sole o fra loro associate, sulla digeribilità dei grassi, i risultati sono riportati nella tabella n.4.

Tabella n.4 - Ripartizione delle frazioni lipidiche delle feci al termine della prova (medie stimate).

Gruppo		A	B	C	D	DSR
Grassi totali	%	18.33	20.74	22.68	22.29	3.21
Grassi neutri	%	6.75	4.54	4.66	4.36	2.64
Saponi	%	8.15 a	10.62 ab	14.21 b	14.31 b	2.83
Acidi grassi	%	3.67	5.25	3.72	3.79	1.47

Valori covariati con i corrispondenti valori iniziali.

a,b : P<0.05.

E' possibile notare un miglioramento della digeribilità dei grassi, a seguito dell'introduzione della lipasi e dell'associazione fra le due sostanze, confermato

dall'innalzamento significativo ( $P < 0,05$ ) del tenore di saponi nelle feci (10). La lisolectina da sola, pur innalzando lo stesso parametro, non ottiene un effetto significativo ( $P > 0,05$ ), in disaccordo con quanto da noi già rilevato (4). Bontempo e coll. (6), operando su scrofe in lattazione non hanno messo in luce variazioni significative della digeribilità ileale apparente della frazione lipidica, della sostanza secca e dell'azoto a seguito della supplementazione delle razioni con lipasi. Le analisi condotte sul sangue (tabella n.5) hanno permesso di rilevare che l'associazione di lisolectina e di lipasi è in grado di incrementare, rispetto sia ai controlli sia al gruppo alimentato con la sola lisolectina, la glicemia.

Tabella n. 5 - Parametri ematici al termine della prova (medie stimate)

Gruppo		A	B	C	D	DSR
Glucosio	mg/100 ml	106.1 a	99.4 a	108.0 ab	116.6 b	5.7
Urea	“	26.3 b	19.3 ab	17.9 a	20.3 ab	5.1
Col. Totale	“	135.1 bc	135.4 c	109.5 a	115.2 ab	12.8
Col. HDL	“	49.4	46.7	45.7	45.1	7.5
Col. LDL	“	84.1 b	82.7 b	55.3 a	63.5 a	8.5
HDL/LDL		0.59 a	0.57 a	0.81 b	0.74 b	0.09
NEFA	mg/100 ml	6.24 A	6.57 AB	6.68 AB	6.98 B	1.16
Trigliceridi	“	23.6 a	29.0 ab	27.9 ab	31.2 b	3.9
Lipidi totali	“	362 b	360 b	281 a	306 a	26

Valori covariati con i corrispondenti valori iniziali  
a,b :  $P < 0,05$  ; A,B :  $P < 0,10$ .

Inoltre, rispetto al gruppo A, il gruppo D ha presentato una riduzione non significativa dell'azoto e del colesterolo totale ( $P > 0,05$ ) e significativa della frazione LDL del colesterolo e dei lipidi totali ( $P < 0,05$ ), e un aumento significativo del rapporto HDL/LDL, dei trigliceridi ( $P < 0,05$ ) e dei NEFA ( $P < 0,10$ ).

I buoni risultati ottenuti nella presente prova, limitatamente all'impiego della lisolectina, non collimano con quelli da noi riportati in altra sede (4), e potrebbero essere spiegati con la diversa dose di impiego del prodotto e con la differente durata del trattamento. Nella presente prova, rispetto alla precedente, la dose è risultata superiore di circa 3 volte e la durata dell'esposizione inferiore (78 d vs 89-164d).

Con riferimento alla lipasi, le scarse notizie circa il suo impiego nel vitello a carne bianca (5) testimoniano per l'assenza di effetti significativi su tutti i parametri di allevamento. I risultati delle nostre indagini mettono, invece, in luce un'azione positiva nei riguardi della digeribilità dei grassi, accanto a significative modificazioni a carico di alcuni parametri ematici (riduzione dell'urea, del colesterolo LDL e dei lipidi totali, aumento del rapporto HDL/LDL) e del diametro degli adipociti.

In conclusione, riteniamo possibile affermare che l'associazione delle due sostanze esercita effetti positivi sulle performance di vitelli a carne bianca, attraverso un innalzamento della utilizzazione digestiva dei grassi e variazioni metaboliche orientate verso una maggior mobilitazione lipidica o una maggior disponibilità dei lipidi alimentari; alla luce dei risultati ottenuti, entrambe le ipotesi appaiono giustificate; la prima risulta, infatti, avvalorata dalla riduzione del diametro degli adipociti e dal valore dei NEFA, tendenzialmente superiore ai controlli, la seconda dall'aumento dei trigliceridi e della digeribilità dei grassi.

Parole chiave: vitello a carne bianca, lisolectina, lipasi  
Key words: veal calf, lysolecithin, lipase

RIASSUNTO - E' stata condotta una prova di campo su 80 vitelli a carne bianca di razza Frisona italiana, della durata di 78 d, corrispondenti alla fase finale del ciclo di produzione. Gli animali sono stati alimentati con un latte ricostituito del commercio non addizionato (gruppo A, controllo) o addizionato con lisolecitina (2 g/capo/d ; gruppo B), lipasi (5800 U/capo/d ; gruppo C) o lisolecitina + lipasi (1 g + 2900 U/capo/d ; gruppo D). Rispetto al gruppo A, i vitelli del gruppo D hanno manifestato un miglioramento non significativo delle performance di allevamento, accanto ad un significativo incremento della digeribilità dei grassi ( $P < 0,05$ ). Gli stessi soggetti hanno messo in luce alcune significative variazioni dei parametri ematici (aumento della glicemia, del rapporto HDL/LDL, dei trigliceridi e dei NEFA, riduzione del colesterolo LDL e dei lipidi totali). Rispetto ai controlli, tutti i soggetti trattati hanno mostrato una riduzione del diametro degli adipociti.

SUMMARY - The effects of lysolecithin - lipase association in veal calf production During a field trial, 80 Italian Friesian veal calves, from 150 to 250 kg l.w. were divided into 4 homogeneous groups : group A (control) was fed a commercial milk replacer, as groups B,C,D were fed the same one, supplemented, resp., with lysolecithin (2 g/head/d), lipase (5800 U/head/d), lysolecithin+lipase (1 g + 2900 U/head/d). Final weight, daily gain, milk intake and feed/gain ratio were 249.36, 259.18, 254.35, 253.37 kg; 1213, 1320, 1289, 1267 g/d; 2.797, 2.89, 2.812, 2.876 kg/d; 2.38, 2.2, 2.2, 2.29 g milk replacer/g weight gain. The treatments improved ( $P < 0.05$ ) fat digestibility (soap fraction of feces increased by 30.3%, 74.4% and 75.6%, resp., for groups B,C,D, in relation to controls). The association of lysolecithin and lipase significantly improved blood glucose (+9.9%), HDL/LDL ratio (+25.4%), triglycerides (+32.2%) ( $P < 0.05$ ) and NEFA (+11.9%) ( $P < 0.10$ ) and decreased LDL cholesterol (-24.5%) and total lipids (-15.5%) ( $P < 0.05$ ). Adipocyte diameter was lower in treated calves (groups B,C,D: 57.45; 57.35; 58.10 mm) than in controls (60.08 mm;  $P < 0.01$ ).

RÉSUMÉ - Effets de l'emploi de lysolecithine plus lipases sur le paramètres productives des veaux de boucherie. Une étude de champ a été conduite sur 80 veaux de boucherie, de la race Frisone italienne, pour une durée de 78 jours. Cette durée correspond à la phase finale du cycle de production. Les animaux ont été alimentés avec un lait reconstitué du commerce. Le lot A, témoins, a été alimenté avec du lait non additionné ; le lot B avec du lait additionné de lysolecithine (2g/tête/jour) ; le lot C avec du lait additionné de lipases (5800 U/tête/jour) ; le lot D avec du lait additionné de lysolecithine plus lipases (1 g + 2900 U/tête/jour). Par rapport au lot témoin (lot A), les veaux du lot D ont manifesté une amélioration non significatif des performances de l'élevage et en même temps un développement significatif de la digestibilité des lipides ( $P < 0,05$ ). Ces même sujets ont mis en évidence quelques variations significatives des paramètres hématiques (augmentation de la glycémie, du rapport HDL/LDL, des triglycérides et des acides gras non-estérifiés, une réduction du cholestérol LDL et du lipides totaux). Par rapport au lot témoin, tous les sujets traités ont montré une réduction du diamètre des adipocytes.

## BIBLIOGRAFIA

1. PICCIONI M. (1989) 'Dizionario degli alimenti per il bestiame'. Edagricole, Bologna.
2. CAVALLINI D., ROSSI FANELLI A. (1975) 'Chimica biologica'. Ed. Veschi, Roma.
3. SUPERCHI P., TUCCI T., SABBIONI A., VERONESI G.M., CERATI C. (1996) Lysolecithin supplementation of fat added diets for post-weaning piglets. Proceedings 14th International Pig Veterinary Society Congress, Bologna, 7-10 Luglio, 424.
4. SABBIONI A., BONOMI A., SUPERCHI P., TAGLIETTI P., CHIUMIENTO D. (1996) L'impiego della lisolecitina nell'alimentazione dei vitelli a carne bianca. Annali Fac. Med. Vet. di Parma, **16**, 129-139.
5. WETSCHEREK W., ZOLLITSCH W., WAGNER B. (1991) Lipase in calf feeding. Forderungsdienst, **39** (10), 293-294.
6. BONTEMPO V., SAVOINI G., BALDI A., GRECO R., DELL'ORTO V. (1997) Utilizzo di lipasi nelle diete con elevata concentrazione energetica : effetti sulle performances produttive e riproduttive di scrofe in lattazione e sulla digeribilità ileale apparente dei lipidi nelle scrofette. Zootecnica Nutrizione Animale, **23** (1), 41-50.
7. MAF-ASPA (1991) 'Metodologie relative alla macellazione degli animali di interesse zootecnico e alla valutazione e dissezione della loro carcassa'. ISMEA, Roma.
8. VARLEY H. (1969) 'La diagnosi di laboratorio nella pratica clinica'. Ed. Il Pensiero Scientifico, Roma.
9. SAS (1989) 'SAS/Stat User's Guide'. Version 6. 4th Ed., Vol.2. SAS Inst.Inc., Cary NC.
10. BONOMI A., SABBIONI A., QUARANTELLI A., VENTURIELLO L. (1991) L'integrazione con grassi di diversa origine dei lattici artificiali impiegati nell'allevamento dell'agnello leggero (contributo sperimentale). La Rivista della Società Italiana di Scienza dell'Alimentazione, **20**, 3, 129-136.

# INDAGINE SUI PRINCIPALI FATTORI CHE INFLUENZANO LE VARIAZIONI DEL BODY CONDITION SCORE NELLE BOVINE DA LATTE\*

Sabbioni A., Superchi P., Maggiali A., Fontana F., Bonomi B.M.

*Istituto di Zootecnica, Alimentazione e Nutrizione, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università di Parma.*

\* Il piano, l'esecuzione delle indagini e le conclusioni spettano in parti uguali agli Autori  
Ricerche effettuate con il contributo finanziario del M.U.R.S.T.

## Introduzione

E' noto che nell'arco della lattazione la bovina va incontro a variazioni, anche considerevoli, del peso vivo e dello stato di ingrassamento, dovute dapprima alla incompleta aderenza del livello nutritivo a quello produttivo (fase di bilancio energetico negativo) e, successivamente, alla ricostituzione dei depositi (fase di bilancio energetico positivo).

Tuttavia, il semplice controllo del peso vivo non è sempre in grado di fornire indicazioni sull'entità delle riserve adipose. Butler-Hogg e coll. (1985) hanno calcolato un coefficiente di correlazione fra peso vivo e adiposità totale pari a 0,42. Inoltre, non sempre la perdita di peso corrisponde ad una perdita delle riserve, dal momento che quest'ultima può essere compensata dall'accumulo di acqua (Bertoni e Trevisi, 1992). Esiste poi una forte dipendenza del peso vivo da altri fattori, quali la capacità del digerente, la presenza del feto, la struttura ossea della bovina. Per questi motivi, oltre che per la oggettiva difficoltà di rilevamento nella maggior parte degli allevamenti, il controllo del peso vivo non appare attuabile.

Emerge, quindi, chiara la necessità per il veterinario di possedere un metodo di rapida applicazione in azienda, affidabile e facilmente apprendibile, in grado di stimare l'entità delle riserve adipose della bovina nelle diverse fasi del ciclo produttivo, soprattutto al fine di valutare gli effetti del razionamento, in modo da evitare le influenze negative della eccessiva obesità o magrezza sulla produttività dell'animale.

Le riserve energetiche, cui la bovina può fare ricorso, nelle fasi iniziali della lattazione, sono costituite essenzialmente dai grassi di deposito. La mobilitazione del tessuto proteico sembra, infatti, essere trascurabile, a meno di trovarsi di fronte ad una reale restrizione dell'assunzione di alimento (Bath e coll., 1965; Chilliard e Robelin, 1983). Altre ricerche di Chilliard e coll. (1987) hanno quantificato il contributo del tessuto muscolare alla copertura del deficit energetico significativo: quando quest'ultimo si alza a livello di 5 Mcal/d, le proteine arrivano a coprirne al massimo il 3-13%. Andrew e coll. (1994), prendendo in considerazione la composizione corporea di bovini nella fase precedente al parto, all'inizio e alla fine della lattazione, non hanno notato differenze significative relativamente al peso totale delle proteine (risp. Kg 77,8; 81,1; 85,7); facendo invece riferimento alla distribuzione delle stesse nei diversi compartimenti del corpo, hanno messo in evidenza, nella prima fase della lattazione, una mobilitazione della proteina dalla carcassa e una redistribuzione verso i tessuti che sostengono la lattazione stessa, primariamente il tratto gastro-intestinale e la mammella. A fronte di una riduzione della proteina della carcassa, nel passaggio da fase pre-parto ad inizio lattazione, pari a 1,71 Kg si assiste ad un aumento della proteina del tratto gastro-intestinale di 1,05 Kg e nella mammella di 0,12 Kg. Rapportando queste variazioni ponderali al peso dei relativi organi, ed esprimendole quindi come variazioni percentuali della proteina grezza, le suddette variazioni sono di 9,1 punti percentuali per la carcassa, 18,3 per il tratto gastro-intestinale e 7,1 per la mammella.

Le variazioni della condizione corporea delle bovine sono quindi fondamentalmente da attribuire alle modificazioni dei depositi adiposi. Le citate ricerche di Butler-Hogg e coll. (1985) hanno messo in luce la dinamica di tali variazioni e l'apporto di ciascun deposito alla lipomobilitazione: in particolare, il grasso sottocutaneo contribuisce per il 22% alla mobilitazione adiposa e presenta un coefficiente di correlazione con la adiposità globale pari a 0,97.

La valutazione del Body Condition Score (BCS) o punteggio della condizione corporea, fa appunto riferimento alla entità dei depositi adiposi sottocutanei della bovina per esprimere una stima della adiposità globale. E' un metodo di facile apprendimento e di pratico utilizzo in azienda, non solo da parte del veterinario, ma anche dell'allevatore, a patto che la scala di riferimento del punteggio e le regioni interessate dalla valutazione siano uguali.

Come è facilmente intuibile, il BCS risente fortemente della azione di fattori di variazione legati all'ambiente di allevamento, alle condizioni manageriali e di alimentazione, oltre che di fattori individuali, quali età, stadio fisiologico e tipo genetico.

La ricerca, sulla quale ci accingiamo a riferire, ha avuto lo scopo di verificare, nella realtà degli allevamenti, l'incidenza delle principali fonti di variabilità sulla determinazione del BCS. In particolare si è cercato di mettere in luce l'effetto del valutatore, dell'allevamento, della razza, dell'ordine di parto, del livello produttivo degli animali, della distanza dal parto o dall'inizio dell'asciutta, sullo stato di ingrassamento di regioni diverse, anche al fine di valutare la convenienza e la fattibilità di una semplificazione della metodica, attraverso l'esame mirato di un numero ristretto di regioni.

## Materiali e metodi.

La valutazione del BCS è stata condotta su bovine da latte, di razza Frisona italiana (F) e Bruna (B), allevate presso 4 aziende, tre della provincia di Parma e una della provincia di Reggio Emilia, nel periodo compreso fra maggio 1995 e febbraio 1996 da parte di due valutatori. Sono state controllate complessivamente 174 bovine, di cui 37 nell'azienda n.1, 50 nell'azienda n.2, 24 nell'azienda n.3 e 63 nell'azienda n.4.

Il metodo adottato per la valutazione del BCS è stato quello proposto da Bazin (1984), che prevede l'esame visivo dell'animale posteriormente e di fianco. Il criterio di valutazione posteriore (PO) prende in considerazione: a) la base della coda e la punta della natica (PO1), b) il legamento sacro - tubercolo (PO2), c) la fossa caudale (PO3), d) la spina dorsale (PO4), mentre l'esame del fianco destro (FI) è rivolto: a) alla punta dell'anca (FI1), b) alle apofisi trasverse e spinose (FI2).

A ciascuna delle sei zone considerate si può attribuire un punteggio da 0 a 5 con scatti di 0,5 punti; quindi si ottiene la media dei punteggi per ciascuno dei due criteri di posizionamento (posteriore e di fianco) e successivamente il valore del BCS dalla media di questi ultimi. In tale modo il BCS tiene conto di eventuali deposizioni «preferenziali» di tessuto adiposo fra una regione ed un'altra, permettendo così di correggere la valutazione finale sulla base delle differenze individuali fra un soggetto ed un altro (Speroni e coll., 1991). Le valutazioni sono state effettuate in un arco di tempo di 10 mesi (da maggio 1995 a febbraio 1996), a cadenza mensile, su tutte le bovine, nei giorni immediatamente precedenti o successivi ai controlli funzionali operati dall'Associazione Provinciale Allevatori, in modo tale da usufruire del dato produttivo di ciascun animale. La prova è stata preceduta da un periodo di addestramento dei due valutatori alla applicazione del metodo. In tale periodo essi si scambiavano impressioni sull'animale in oggetto, in modo che la procedura di valutazione fosse assimilata senza vizi legati alla soggettività. Nel corso della prova, invece, i valutatori agivano indipendentemente l'uno dall'altro al fine di poter apprezzare l'eventuale persistenza di una interpretazione soggettiva del metodo.

I dati sono stati elaborati ricorrendo a due modelli distinti a seconda della fase fisiologica degli animali (in asciutta o in lattazione), attraverso la procedura GLM del SAS (1989). La tabella n.1 riporta la

numerosità delle osservazioni per ciascun livello dei fattori azienda, razza e ordine di parto e per ciascun modello. In particolare sugli animali in asciutta è stato applicato il seguente modello lineare:

$$Y_{ijklm} = \mu + V_i + A_j + R_k + OP_l + b_1 X1_{ijklm} + b_2 X1^2_{ijklm} + b_3 X2_{ijklm} + e_{ijklm}$$

ove:  $Y_{ijklm}$  = singola osservazione;

$\mu$  = media generale;

$V_i$  = effetto fisso del valutatore (  $i = 1,2$ );

$A_j$  = effetto fisso dell'allevamento (  $j = 1,2,3,4$ );

$R_k$  = effetto fisso della razza (  $k = B, F$ );

$OP_l$  = effetto fisso dell'ordine di parto (  $l = 1,2,3,>=4$ );

$b_1, b_2, b_3$  = coefficienti di regressione con la durata del periodo di asciutta (X1) al momento della valutazione, in forma lineare e quadratica, e con la produzione equivalente vacca matura (EVM) (X2).

Sugli animali in lattazione il modello lineare adottato è stato il seguente:

$$Y_{ijklmn} = \mu + V_i + A_j + R_k + OP_l + ML_m + b_1 X1_{ijklmn} + b_2 X2_{ijklmn} + e_{ijklmn}$$

ove:

$ML_m$  = effetto fisso del mese di lattazione (  $m = 1, \dots, 10$ );

$b_1, b_2$  = coefficienti di regressione con l'EVM (X1) e con la produzione di latte al momento del controllo (X2).

Sono state calcolate le medie stimate per ciascun livello di ogni fattore sia per il BCS, sia per ciascuna delle valutazioni relative alle sei aree anatomiche citate in precedenza (PO1, PO2, PO3, PO4, F11, F12), che per i criteri di posizionamento del valutatore (PO, FI).

Tabella n.1 - Numero delle osservazioni.

Fase di asciutta ( B = 410, F = 134)

Azienda	1		2		3		4		Totale
Razza	B	F	B	F	B	F	B	F	
Ordine di parto									
1	16	12	58	-	10	-	30	10	136
2	20	24	8	-	22	-	26	4	104
3	4	22	32	-	18	12	2	14	104
≥4	40	14	94	-	18	-	12	22	200
TOTALE	80	72	192	-	68	12	70	50	544

Fase di lattazione ( B= 1430, F = 800)

Azienda	1		2		3		4		Totale
Razza	B	F	B	F	B	F	B	F	
Ordine di parto									
1	36	64	58	128	14	50	120	38	508
2	36	142	106	-	92	-	106	40	522
3	22	12	38	-	70	18	70	46	276
≥4	122	120	378	-	76	18	86	124	924
TOTALE	216	338	580	128	252	86	382	248	2230

## Risultati e discussione

Dall'esame della tabella n.1, relativa al numero delle osservazioni individuali, distinte per azienda, razza, ordine di parto e stadio fisiologico, si osserva che il campione era costituito prevalentemente da bovine di razza Bruna (66,3%): poiché il metodo impiegato per la valutazione del BCS è stato impostato su bovine Frisone di ceppo nord Americano (Speroni e coll. 1991), la valutazione contemporanea delle bovine delle due razze, operata nelle aziende 1 e 4, e solo parzialmente negli allevamenti 2 e 3, ha permesso di applicare il metodo anche alla razza Bruna. D'altro canto è noto che il lavoro di selezione operato su questa razza negli ultimi anni, attraverso l'impiego massivo di seme importato dagli Stati Uniti, ha modificato la tipologia degli animali verso i caratteri più spiccatamente lattiferi. In tale ottica non sono state messe in luce particolari difficoltà di valutazione legate alla razza.

La tabella n.2 riporta i valori medi ( $\bar{n}$  ds) dei diversi parametri sottoposti ad elaborazione, per i due campioni di bovine (in lattazione e in asciutta). E' da notare che i due campioni si riferiscono alla stessa popolazione, valutata però in momenti differenti: infatti nel corso dei dieci mesi di prova la quasi totalità delle bovine è passata da un campione all'altro, in relazione allo stato fisiologico.

Tabella n.2 - Parametri rilevati ( $x \pm d.s.$ ) e coefficienti di correlazione con il BCS ( $r$ ).

PARAMETRO	BOVINE IN LATTAZIONE		BOVINE IN ASCIUTTA	
	$x \pm d.s.$	$r$	$x \pm d.s.$	$r$
PO1	2.20 $\pm$ 0.80	0.821	2.93 $\pm$ 0.61	0.731
PO2	2.51 $\pm$ 0.87	0.816	3.41 $\pm$ 0.68	0.708
PO3	2.32 $\pm$ 0.89	0.831	3.30 $\pm$ 0.78	0.803
PO4	2.50 $\pm$ 0.91	0.878	3.31 $\pm$ 0.78	0.855
FI1	2.23 $\pm$ 0.89	0.904	3.02 $\pm$ 0.73	0.865
FI2	2.39 $\pm$ 0.90	0.880	3.16 $\pm$ 0.80	0.885
PO	2.39 $\pm$ 0.78	0.936	3.24 $\pm$ 0.61	0.916
FI	2.31 $\pm$ 0.85	0.946	3.09 $\pm$ 0.71	0.940
BCS	2.35 $\pm$ 0.76	-	3.16 $\pm$ 0.61	-
DIM	168 $\pm$ 104	0.212	-	-
DIM <sup>2</sup>	-	0.248	-	-
DD	-	-	50 $\pm$ 42	0.195
DD <sup>2</sup>	-	-	-	0.197
EVM	6536 $\pm$ 1198	-0.295	5987 $\pm$ 1306	-0.229
MILK	19.40 $\pm$ 6.89	-0.295	-	-

Tutti i coefficienti di correlazione sono significativi per  $P < 0.001$ .

LEGENDA : DIM : giorni di distanza dal parto ; DD : giorni dall'inizio dell'asciutta ; EVM : produzione equivalente vacca matura ; MILK : produzione di latte (kg) al momento della valutazione.

La tabella non fornisce elementi per valutare l'evoluzione del BCS nel corso della lattazione, ma permette, in ogni caso, di fare alcune considerazioni.

Il campione delle bovine in lattazione si riferisce ad animali a  $168 \pm 104$  d di distanza dal parto, e copre quindi l'intera durata del ciclo produttivo. Lo stesso vale per le bovine valutate nel corso del periodo di asciutta ( $50 \pm 42$  d).

Come messo in luce da numerosi Autori i valori registrati durante la lattazione, in ciascuna regione considerata, come pure il valore finale del BCS, sono stati più bassi in lattazione che in asciutta, con differenze oscillanti, a seconda della regione dal 24% al 30%.

La stessa tabella riporta le correlazioni semplici fra le valutazioni di condizione corporea nelle diverse regioni e il BCS. Tutte le correlazioni sono risultate positive e altamente significative all'analisi statistica. I criteri di valutazione che hanno come oggetto il fianco dell'animale (FI1, FI2) sembrano maggiormente correlati con il BCS, sia negli animali in asciutta sia in lattazione, rispetto a quelli con visione posteriore (PO1, PO2, PO3, PO4). Inoltre, per ciascuna regione, eccettuata FI2, il valore del coefficiente di correlazione riscontrato sugli animali in lattazione è risultato maggiore di quello valutato sulle bovine in asciutta. Il BCS delle bovine in lattazione è stato inoltre correlato in misura significativa e positiva con la distanza in giorni dal parto (DIM); la significatività aumenta se la correlazione viene fatta con la stessa distanza elevata al quadrato (a dimostrazione che le variazioni del BCS nel corso della lattazione non hanno andamento lineare). I dati concordano con quanto riscontrato da Gallo e coll. (1996) su bovine Frisone italiane. Gli stessi Autori, come pure Waltner e coll. (1993) mettono in luce anche una relazione negativa fra il BCS e la distanza in giorni dal parto elevata al cubo. Il BCS delle bovine in asciutta si è dimostrato correlato positivamente con i giorni di distanza dall'inizio dell'asciutta (DD). Tale correlazione, di entità modesta, si mantiene agli stessi valori anche elevando i giorni di asciutta al quadrato. Ciò induce a ritenere, in accordo con quanto riportato da Bittante e coll. (1994), che nel corso del periodo di asciutta non si siano verificate variazioni significative del BCS, avendo già le bovine ricostituito le riserve energetiche nella fase finale della lattazione.

Circa la relazione tra BCS ed attitudine produttiva degli animali (stimata attraverso la produzione equivalente vacca matura, o EVM) essa è risultata negativa e significativa sia negli animali in lattazione sia in quelli in asciutta, con intensità maggiore nei soggetti di maggior merito produttivo.

La tabella n.3 riporta i risultati dell'analisi condotta sul campione delle bovine in asciutta. I valori rappresentano le medie stimate per ciascun livello di ogni fattore e non le medie reali, a causa della mancanza di bilanciamento del disegno sperimentale.

Tabella n.3 - Variazione delle valutazioni nelle diverse regioni e del BCS in relazione ad alcuni fattori ambientali (campione delle bovine in asciutta) - (medie stimate).

PARAMETRO	PO1	PO2	PO3	PO4	FI1	FI2	PO	FI	BCS
<i>VALUTATORE</i>									
1	2.88	3.34	3.18	3.08	2.83	2.87	3.12	2.85	2.99
2	2.82	3.40	3.19	3.04	2.84	2.91	3.11	2.88	3.00
<i>AZIENDA</i>									
1	3.07b	3.62c	3.68c	3.56b	3.31b	3.45b	3.48c	3.38b	3.43b
2	2.80a	3.41b	3.16b	2.90a	2.63a	2.75a	3.07b	2.69a	2.88a
3	2.70a	3.26ab	2.80a	2.83a	2.62a	2.58a	2.90a	2.60a	2.75a
4	2.84a	3.18a	3.09b	2.95a	2.78a	2.78a	3.02ab	2.78a	2.90a
<i>RAZZA</i>									
B	2.90	3.32	3.21	3.36b	3.08b	3.21b	3.20b	3.15b	3.17b
F	2.80	3.42	3.16	2.76a	2.59a	2.57a	3.03a	2.58a	2.81a
<i>ORD. PARTO</i>									
1	2.82a	3.42b	3.15b	3.12b	2.89b	2.94b	3.13b	2.92b	3.02b
2	2.74a	3.20a	2.95a	2.78a	2.63a	2.69a	2.91a	2.66a	2.79a
3	2.82a	3.38ab	3.21b	2.94ab	2.79ab	2.71a	3.09b	2.75a	2.92ab
≥4	3.04b	3.49b	3.43c	3.41c	3.04c	3.22c	3.34c	3.13c	3.24c
DD	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
DD <sup>2</sup> (*10 <sup>-6</sup> )	n.s.	n.s.	n.s.	2.81*	n.s.	2.44*	n.s.	2.14*	1.70*
EVM (*10 <sup>-6</sup> )	-5.21*	-10.55**	-10.07**	-11.74**	-8.39*	-10.47**	-9.39**	-9.43**	-9.41**
DSE	0.58	0.64	0.70	0.64	0.65	0.65	0.53	0.59	0.51
R <sup>2</sup>	10.50	13.09	21.71	35.57	24.75	36.93	24.25	35.11	33.46

a, b, c = P< 0.05 ; \* = P< 0.05 ; \*\* = P< 0.001 ; n.s. = non significativo.  
DD, EVM :vd. Tabella n.2.

L'esame della tabella permette di mettere in luce che:

- a) - l'effetto del valutatore non è mai risultato significativo, nè vi sono state sistematiche valutazioni in eccesso o in difetto dell'uno o dell'altro operatore. Inoltre, essendo la stima finale del BCS la risultante della media delle medie per ciascun criterio di valutazione (posteriore e di fianco), il suo calcolo annulla anche le piccole differenze riscontrate in alcune regioni (esempio: PO1: 2.88 vs 2.82; PO2: 3.34 vs 3.40; differenza valutatore 1 - valutatore 2 = 0.06 nel primo caso e -0.06 nel secondo). Mantovani e coll. (1992) avevano riscontrato che l'effetto valutatore era significativo se l'elaborazione veniva fatta fra valutatori esperti e in formazione. Nel caso invece della elaborazione entro esperti ed entro novizi, l'effetto valutatore veniva perso. Ciò è confermato dalle nostre indagini, per le quali, come accennato in precedenza il livello di «esperienza» dei due valutatori era lo stesso;
- b) - l'azienda ha sempre svolto un ruolo significativo (P<0.05) sia all'interno delle singole regioni sia nella valutazione finale. E' evidente che in questo fattore ne sono compresi molti altri (alimentazione, livello di professionalità del conduttore, collocazione geografica in relazione alla temperatura, umidità, ventilazione, ecc.) e che le differenze fra le aziende hanno un andamento abbastanza costante (l'azienda n.1 risulta sempre quella con le valutazioni più alte, la n.3 quella con i punteggi più bassi);
- c) - l'effetto della razza non è sempre risultato significativo per tutte le regioni mediante l'applicazione del criterio di valutazione posteriore. Tuttavia la media dei quattro punti di valutazione posteriore è risultata significativamente più elevata (P<0.05) nelle bovine di razza Bruna, rispetto alle Frisone, in virtù del forte contributo offerto dal criterio PO4 (spina dorsale vista da dietro), rispetto agli altri tre, che si riferiscono alla groppa e alla natica. Anche le valutazioni ottenute applicando il criterio di valutazione dal fianco e il BCS sono risultati più alti nelle Brune rispetto alle Frisone (P<0,05). Tali risultati erano in parte attesi, perché il campione si riferisce a bovine in asciutta, nelle quali cioè dovrebbe essere giunto a compimento il ritorno del BCS a valori sovrapponibili a quelli a inizio lattazione e in più si dovrebbe assistere ad un modesto «ritorno in forma», senz'altro favorito nelle Brune, per la loro migliore conformazione;
- d) - l'ordine di parto è sempre risultato fonte di variabilità per la valutazione dello stato di ingrassamento, sia a livello di singole regioni sia per il BCS. E' interessante notare che i valori più bassi, anche se non sempre in modo statisticamente significativo, sono quelli riscontrati sulle secondipare. Poiché il campione delle secondipare in asciutta è relativo a bovine che hanno terminato la seconda lattazione, è evidente che gli animali, alla fine della stessa, non hanno esaurito il processo di ricostituzione delle riserve e si presentano con una peggiore condizione corporea. Tale considerazione è in contrasto con quanto riportato da Bittante e coll. (1994), i quali hanno invece registrato nelle secondipare i valori più alti di BCS, e di Waltner e coll. (1993), i quali non hanno messo in evidenza un effetto significativo dell'ordine di parto;
- e) - circa l'effetto delle variabili continue inserite nel modello, la durata del periodo di asciutta non è mai risultata significativa in forma lineare, e ha raggiunto la significatività solo in alcuni casi in forma quadratica. Ciò conforta nella interpretazione, già proposta da altri (Bittante e coll., 1994; Hady e coll., 1994) che il valore di BCS non si modifichi sostanzialmente nel corso dell'asciutta, se non per durate anomale della stessa (nella nostra indagine: variazioni di 0.29 punti dal valore medio per durate dell'asciutta superiori di 2 d.s. rispetto alla media). Sempre significativo è invece risultato l'effetto del merito produttivo delle bovine. La relazione è di tipo lineare e porta a una riduzione di circa 0,1 punti di BCS ogni 1000 Kg di latte EVM delle bovine in più rispetto al valore medio. Il dato è sostanzialmente in accordo con quanto riscontrato da altri Autori (Bittante e coll., 1994) su bovine Frisone in asciutta, anche se diverso nella entità della variazione;
- f) - il modello adottato spiega una quota di varianza della valutazione del BCS pari al 33,46%, sicuramente accettabile se si tiene conto della numerosità del campione e della impossibilità di includere nel modello tutte le fonti di variabilità. Bisogna inoltre considerare che la valutazione di alcune regioni (PO1 e PO2) ha mostrato coefficienti di determinazione più bassi (rispettivamente 10,50% e 13,09%), probabilmente perché sulle stesse agiscono fonti di variabilità legati alla costituzione dell'animale e alla sua struttura ossea.

La tabella n.4 riporta i risultati dell'analisi della varianza effettuata sul campione delle bovine in lattazione. Dall'esame della tabella è possibile rilevare che:

Tabella n.4 - Variazione della valutazione nelle diverse regioni e del BCS in relazione ad alcuni fattori ambientali (carupione delle bovine in lattazione) (medie stimate).

Parametro	PO1	PO2	PO3	PO4	FI1	FI2	PO	FI	BCS	Kg latte
<b>VALUTATORE</b>										
1	2.11	2.36a	2.20	2.29	2.06	2.19	2.24	2.12	2.18	-
2	2.06	2.44b	2.20	2.28	2.06	2.20	2.25	2.13	2.19	-
<b>AZIENDA</b>										
1	2.26c	2.66c	2.33c	2.66c	2.29c	2.56b	2.48d	2.43c	2.45c	20.6
2	2.22c	2.57c	2.38c	2.24b	2.08b	2.09a	2.36c	2.09b	2.22b	20.0
3	2.02b	2.41b	2.18b	2.24b	2.03b	2.08a	2.21b	2.06b	2.13b	20.0
4	1.82a	1.96a	1.90a	1.98a	1.85a	2.04a	1.92a	1.94a	1.93a	19.9
<b>RAZZA</b>										
B	2.33b	2.58b	2.36b	2.80b	2.42b	2.65b	2.52b	2.53b	2.53b	20.4
FI	1.83a	2.21a	2.03a	1.76a	1.71a	1.74a	1.26a	1.72a	1.84a	19.8
<b>ORD. PARTO</b>										
1	1.99a	2.26a	2.18a	2.40b	2.12b	2.36c	2.21ab	2.24b	2.22b	18.9
2	2.12b	2.50b	2.22ab	2.31b	2.13b	2.18b	2.22bc	2.15b	2.22b	19.6
3	2.07ab	2.32a	2.11a	2.09a	1.90a	2.02a	2.15a	1.96a	2.05a	21.2
≥4	2.15b	2.51b	2.28b	2.34b	2.10b	2.21b	2.32c	2.15b	2.24b	20.9
<b>MESE DI LAT.</b>										
1	2.41d	2.69de	2.43cd	2.22cd	2.01bc	2.10bc	2.44c	2.05bc	2.25c	26.3
2	2.03bc	2.28ab	1.87a	1.90a	1.69a	1.82a	2.02a	1.76a	1.89a	26.1
3	1.91ab	2.15a	1.88a	1.98ab	1.72a	1.93ab	1.98a	1.82a	1.90a	25.0
4	1.87a	2.18a	1.95ab	2.08bc	1.89b	2.03bc	2.02a	1.96b	1.99ab	23.0
5	1.85a	2.13a	1.99ab	2.14cb	1.86ab	1.95ab	2.03a	1.91ab	1.97ab	20.7
6	1.92ab	2.25ab	2.05b	2.24d	1.95b	2.14c	2.12a	2.04b	2.08b	19.3
7	2.02bc	2.36b	2.23c	2.32e	2.10c	2.35d	2.25b	2.23c	2.24c	17.9
8	2.15cd	2.56cd	2.39cd	2.51ef	2.39d	2.46de	2.40c	2.43d	2.41d	16.4
9	2.25d	2.61d	2.53d	2.63fg	2.48d	2.52ef	2.50c	2.50de	2.50de	14.5
10	2.14d	2.78e	2.66d	2.75g	2.54d	2.63f	2.65d	2.58e	2.62e	11.1
<b>EVM (*10<sup>-6</sup>)</b>	-6.3**	-10.3***	-17.6***	-16.7***	-15.8***	-12.7***	-16.1***	-15.9***	-14.3***	-
<b>MILK</b>	-0.0076	-0.0085	0.0104	0.0111	0.0077	0.0113	0.0014	0.0095	0.0054	-
<b>DSE</b>	0.69	0.73	0.77	0.68	0.75	0.73	0.62	0.68	0.60	3.08
<b>R<sup>2</sup></b>	27.08	29.58	22.29	45.34	30.98	34.78	35.96	36.34	39.67	80.28

a, b, c, d, e, f, g diversi per P< 0.05 ; \* P< 0.05 ; \*\*\*P< 0.001 ; EVM, MILK : vd. Tabella n.2.

- a) - il valutatore non ha in genere costituito fonte di variabilità per la stima del BCS o dello stato di ingrassamento nelle diverse regioni prese in considerazione, fatta eccezione per il criterio PO2 (P<0,05). Come era già stato messo in evidenza per le bovine in asciutta, le differenze fra valutatori sono state maggiori per le regioni PO1 e PO2 (rispettivamente 0,05 punti in più e 0,08 in meno per il primo valutatore, rispetto al secondo). Tali differenze sono tuttavia scomparse nel calcolo finale del BCS;
- b) - analogamente ai rilievi fatti sulle bovine in asciutta, l'azienda costituisce una significativa fonte di variabilità nel calcolo del BCS. Ai fini pratici tale constatazione comporta l'impossibilità di operare confronti fra aziende, perché sicuramente viziati da errori sistematici. L'azienda 4 risulta sempre caratterizzata dai valori più bassi per le singole regioni ed ovviamente nel calcolo del BCS, mentre, al contrario, l'azienda 1 ha sempre messo in luce i valori più alti. Fra questi estremi, peraltro sempre significativi (P<0,05), si collocano le aziende 2 e 3 con differenze non sempre significative sia con le precedenti sia fra di loro;
- c) - le bovine di razza Frisona sono sempre risultate significativamente più magre delle Brune. Poiché tale reperto non sembra da ascrivere al livello produttivo medio, risultato di Kg 19,8 per le prime e 20,4 per le seconde, si potrebbe avanzare l'ipotesi che le differenze razziali siano legate alla tipologia degli animali e alla loro costituzione, e che la metodica di valutazione, proposta inizialmente per le bovine di razza Frisona, sia sufficientemente elastica per essere adattata anche a bovine di razza Bruna;
- d) - nel passaggio dalla prima alla terza lattazione si assiste ad una significativa (P<0,05) riduzione del BCS (da 2,22 a 2,05), da mettere in relazione con l'aumentata capacità produttiva delle bovine (da 18,9 a 21,2 Kg/d). Le differenze fra prima e terza lattazione in corrispondenza delle singole regioni non sono sempre risultate significative, in particolare a livello del criterio di valutazione posteriore;
- e) - il mese di lattazione si è dimostrato in grado di assorbire una buona quota di variabilità. Tralasciando per brevità le differenze riscontrate fra i mesi a livello delle singole regioni, e rivolgendo l'attenzione al solo BCS, si osserva una riduzione, dal primo al terzo-quinto mese di lattazione, seguita da un recupero della forma e dal raggiungimento di un valore corrispondente a quello iniziale al settimo mese di lattazione. La variazione legata alla prima fase della lattazione ha comportato una riduzione di 0,26-0,36 punti fino al quinto mese (120-150 d dal parto). Tale dato collima con quello ottenuto da Gallo e coll. (1996), che riportano riduzioni di 0,31-0,53 punti in bovine di razza Frisona italiana di elevato valore genetico; in quest'ultimo caso, tuttavia la riduzione è risultata anche più repentina, essendo il valore minimo di BCS riscontrato dopo 98-102 d di lattazione. Dalle nostre indagini si evince poi che il valore più elevato del BCS si riscontra dopo nove - dieci mesi di lattazione (>240 d) e comporta il raggiungimento di valori superiori di 0,25 - 0,37 punti rispetto a quelli di inizio lattazione. Rispetto ai dati riportati da Gallo e coll. (1996) esiste una coincidenza parziale: tali Autori, infatti riportano aumenti di 0,01 punti per le primipare, e di 0,20-0,24 punti per le secondipare e per le pluripare. Secondo gli stessi Autori, i punteggi più elevati verrebbero raggiunti fra 297 e 342 d di lattazione. E' interessante citare che nella nostra ricerca il valore di BCS a fine lattazione è superiore rispetto a quello a inizio lattazione. Tale reperto contrasta con quello di Waltner e coll. (1993), secondo i quali i due valori dovrebbero essere uguali, ed è in accordo con Gallo e coll. (1996) per i quali invece si assiste ad un aumento oltre il valore iniziale nelle secondipare e nelle pluripare e al raggiungimento di valori più bassi nelle primipare. Il grafico 1 infine mette in relazione il punteggio del BCS con la produzione latte al momento della valutazione, in rapporto ai mesi di distanza dal parto. Le due curve risultano quasi speculari e confermano la proporzionalità inversa fra i due parametri.

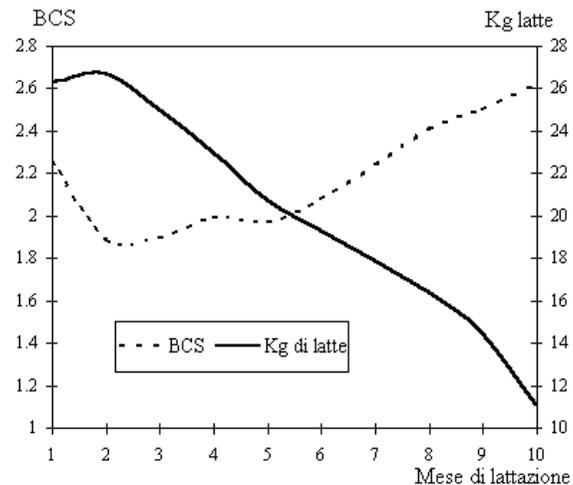


Grafico 1 - Relazione fra BCS e produzione di latte

## Conclusioni

L'utilizzo del BCS quale parametro di valutazione dello stato nutrizionale e quindi della adeguatezza di una razione ai fabbisogni degli animali è una pratica ormai diffusa a livello aziendale, utile anche al fine di prevedere situazioni anomale a carico dello stato di salute delle bovine e della loro efficienza riproduttiva (Bertoni e Trevisi, 1992).

La ricerca da noi condotta, con lo scopo di valutare le principali fonti di variabilità del BCS a livello aziendale, ha confermato che numerosi fattori intrinseci ed estrinseci all'animale influenzano tale parametro. La tabella n.5 riassume i risultati dell'analisi della varianza condotta sui dati sperimentali: dei fattori fissi inclusi nei modelli, solo il valutatore non è mai risultato significativo. Ne deriva che, operando un opportuno addestramento, diversi operatori possono giungere ad una analoga valutazione. Ciò può essere di notevole importanza nei rapporti fra allevatori, veterinario e tecnico alimentarista, che possono scambiarsi informazioni e suggerimenti utilizzando un linguaggio comune. Tutti gli altri fattori fissi assorbono quote significative di variabilità. In particolare è interessante notare l'importanza del fattore razza nelle bovine in lattazione. La ricerca ha previsto il confronto fra Frisone e Brune. E' stato possibile mettere in evidenza valori di BCS sempre più bassi nelle prime. E' quindi necessario, negli allevamenti con presenza contemporanea delle due razze, operare su entrambe.

Delle variabili continue presenti nel modello applicato alle bovine in lattazione, la produzione di latte al momento della valutazione non è risultata significativa. Ciò è comprensibile se si pensa che non tanto la produzione attuale, quanto la produzione cumulata incide sul depauperamento delle riserve energetiche. In tal senso appare ampiamente giustificata l'importanza assunta dal merito produttivo delle bovine (EVM). Nelle bovine in asciutta, la durata della stessa non spiega quote importanti di variabilità, giustificando in tal senso l'idea della assenza di concrete variazioni nella condizione corporea in tale periodo.

Tabella n.5 - Analisi della varianza del BCS

Fonte di variazione	Bovine in asciutta			Bovine in lattazione		
	g.l.	Varianza	P	g.l.	Varianza	P
Valutatore	1	0,014	>0,05	1	0,033	>0,05
Azienda	3	9,785	<0,01	3	20,582	<0,01
Razza	1	6,901	<0,01	1	136,776	<0,01
Ordine di parto	3	4,634	<0,01	3	1,960	<0,01
Mese di lattazione	-	-	-	9	5,901	<0,01
EVM	1	4,913	<0,01	1	19,234	<0,01
MILK	-	-	-	1	0,522	>0,05
DD	1	0,002	>0,05	-	-	-
DD <sup>2</sup>	1	1,017	<0,05	-	-	-
Residua	518	0,259	-	1870	0,354	-

EVM, MILK, DD : vd. Tabella n.2.

La ricerca ha inoltre messo in evidenza che, delle sei regioni coinvolte nella valutazione del BCS, quelle legate ad una visione dell'animale dal fianco, unitamente alla visione posteriore della spina dorsale, sembrano maggiormente correlate con il BCS, mentre le valutazioni delle riserve adipose alla base della coda, alla punta della natica e al legamento sacro tuberale, con visione posteriore dell'animale, lo sembrano meno. Queste ultime regioni inoltre risultano meno influenzate dai fattori presi in considerazione nella elaborazione, dal momento che il loro coefficiente di determinazione (R<sup>2</sup>) risulta sempre inferiore agli altri. Questi ultimi criteri sono inoltre quelli che presentano, sia nelle bovine in asciutta sia in quelle in lattazione, il minor accordo fra i valutatori.

Dall'esame della bibliografia consultata e dai risultati dell'indagine condotta, risulta chiara l'importanza di una corretta valutazione dello stato nutrizionale nella gestione dell'allevamento della bovina da latte, in particolar modo di quelle ad elevata produzione. Dato il carattere pratico della rilevazione ed in virtù della elevata correlazione fra spessore del grasso sottocutaneo e l'adiposità dell'animale, il Body Condition Score si configura come uno strumento rapido e affidabile di valutazione. Per la sua applicazione i diversi Autori sono concordi nell'affermare che è necessario rivolgersi ad uno dei metodi proposti, utilizzando sempre lo stesso ed evitando di operare confronti con valutazioni ottenute attraverso altri metodi. Sarebbe inoltre auspicabile ricorrere a metodi che non prevedano la palpazione delle bovine, che possono così essere valutate a distanza. Infine è necessario ricordare che non è sufficiente una sola valutazione del BCS nel corso della lattazione, ma è utile avere un quadro della dinamica dello stesso, effettuando le rilevazioni almeno in alcuni momenti critici (al parto, al picco, a lattazione avanzata). Nelle bovine in asciutta e per durate normali della stessa, basterebbe invece una sola valutazione.

Parole chiave: bovina da latte, body condition score.

Key words: dairy cow, body condition score.

RIASSUNTO - Gli Autori hanno condotto un'indagine su 174 bovine da latte di razza Frisona italiana e Bruna allevate in 4 aziende, con lo scopo di valutare le fonti di variazione del body condition score (BCS) sugli animali in asciutta e in lattazione. Nei primi la valutazione del BCS dipende in maniera significativa dall'azienda, dalla razza, dall'ordine di parto, dalla produzione EVM (P<0,01) e dalla distanza al quadrato dall'inizio dell'asciutta (P<0,05), nei secondi dall'azienda, dalla razza, dall'ordine di parto, dal mese di lattazione e dalla produzione EVM (P<0,01). L'effetto del valutatore non è mai risultato significativo: in tal senso, la tecnica del BCS, purchè applicata utilizzando lo stesso metodo, può essere di aiuto per un miglior scambio di informazioni fra veterinario e allevatore.

SUMMARY - *A survey about factors influencing body condition score changes in dairy cows.*

Data were recorded from 174 Italian Friesian and Italian Brown dairy cows from 4 herds, scored for body condition by the method of Bazin (1984) at 1 month interval for 10 months, with the aim to value sources of variation of changes in BCS in dry and lactating cows. BCS changes in dry cows were affected by herd, breed, parity, mature equivalent (ME) milk production (P<0.01) and squared days dry (P<0.05); in lactating cows by herd, breed, parity, month of lactation and ME milk production (P<0.01). The operator effect was not significant (P>0.05). So, the evaluation of BCS can aid a better exchange of information between the veterinary and the breeder, if the same method is used.

RÉSUMÉ - *Recherche des principaux facteurs influant sur les variations de l'état d'engraissement (BCS) chez les vaches laitières.*

Les Auteurs ont conduit une recherche sur 174 vaches laitières, Frisonnes italiennes et Brunes Alpines réparties sur quatre exploitations, dans le but de déterminer et d'évaluer les sources de variation de l'état d'engraissement (technique BCS; Body Condition Score) sur des vaches tarées et en lactation. Pour les premières, l'évaluation du BCS dépend de manière significative de l'exploitation, de la race, de l'ordre de vêlage, de la production EVM (P<0,01) et de la période, au carré, écoulée entre le jour du tarissement et le jour du test (P<0,05); pour les deuxièmes de l'exploitation, de la race, de l'ordre de vêlage, du mois de lactation et de la production EVM (P<0,01). Les différences de jugements entre les contrôleurs ne sont jamais apparues significatives. En ce sens, la technique du BCS, si elle est appliquée en utilisant la même méthode, peut aider à améliorer les échanges de références entre le vétérinaire et l'éleveur.

## BIBLIOGRAFIA

- ANDREW S.M., WALDO D.R., ERDMAN R.A. (1994) - Direct analysis of body composition of dairy cows at three physiological stages. *J. Anim Sci.*, **72**, 11, 3022 - 3027.
- BATH D.L., RONNING M., MEYER J.H., LOFGREEN G.P. (1965) - Caloric equivalent of live weight loss in dairy cattle. *J.Dairy Sci.*, **48**, 374 - 380.

- BAZIN S. ( 1984) - Grille de notation de l'état d'engraissement des vaches pie noires. RNED bovin, Paris.
- BERTONI G., TREVISI E. (1992) - Il body condition score (BCS) per valutare lo stato nutrizionale delle lattifere. Praxis Veterinaria, 13, 2, 5 - 8.
- BITTANTE G., GALLO L., CARNIER P., CASSANDRO M., CONTIERO B., MANTOVANI R. (1994) - Fonti di variazione della condizione corporea (BCS) di vacche Frisone in asciutta. Atti SISVet., 48, 1555 - 1559.
- BUTLER - HOGG B.W., WOOD J.D., BINES J.A. (1985) - Fat partitioning in British Friesian cows: the influence of physiological state on dissected body composition. J. Agric. Sci. Camb, 104, 519 - 528.
- CHILLIARD Y., REMOND B., AGABRIEL J., ROBÉLIN J., VERITE R. (1987) - Variations du contenu digestif et des réserves corporelles au cours du cycle gestation - lactation. Bull. Tech. C.R.Z.V., 70, 117 -131.
- CHILLIARD Y., ROBÉLIN J. (1983) - Mobilization of body proteins by early lactating dairy cows measured by slaughter and D2O dilution techniques. In proc. 4th Int. Symp. on Protein Metabolism Nutr.Colloq. INRA, n.16 vol.2 p.185, INRA Publ., France.
- GALLO L., CARNIER P., CASSANDRO M., MANTOVANI R., BAILONI L., CONTIERO B., BITTANTE G. (1996) - Change in body condition score of Holstein cows as affected by parity and mature equivalent milk yield. J. Dairy Sci., 79, 1009-1015.
- HADY P.J., DOMEQ J.J., KANEENE J.B. (1994) - Frequency and precision of body condition scoring in dairy cattle. J.Dairy Sci., 77, 1543.
- MANTOVANI R., COSTA A., CASSANDRO M., CARNIER P., GALLO L. (1992) - Body condition score di vacche da latte e a duplice attitudine: caratterizzazione dell'effetto valutatore. Atti SISVet., 46, 1945 - 1949.
- SAS Institute Inc. (1989) - SAS/STAT User's Guide, Version 6, 4th ed Cary NC.
- SPERONI M., MARCHETTO G., CAPELLETTI M., PIRLO G. (1991) - Valutazione dello stato di ingrassamento delle bovine da latte. L'Informatore Agrario, 47, 16, 53 - 59.
- WALTNER S.S., McNAMARA J.P., HILLERS J.K. (1993) - Relationships of body condition score to production variables in high producing Holstein dairy cattle. J. Dairy Sci., 76, 3410 - 3419.

# L'INTEGRAZIONE DEI MANGIMI PER SUINI ALL'INGRASSO CON BIOTINA: EFFETTI SUI PROSCIUTTI STAGIONATI (CONTRIBUTO SPERIMENTALE)\*

Bonomi A., Quarantelli A., Bonomi B.M., Sabbioni A., Superchi P.

*Istituto di Zootecnica, Alimentazione e Nutrizione, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università di Parma.*

\* Ricerche effettuate con il contributo finanziario del M.U.R.S.T.

## Introduzione

In una precedente nota (1) abbiamo riportato le risultanze ottenute a seguito di indagini volte a valutare la produttività di suini all'ingrasso di razza Large White (dai 40 ai 160 kg di peso vivo) alimentati con mangimi addizionati di biotina protetta mediante microincapsulazione con film di acidi grassi in ragione di 100, 200, 300 e 400 p.p.b. di sostanza attiva. E' stato possibile accertare che alle dosi di 200, 300 e 400 p.p.b. la vitamina ha influenzato positivamente l'efficienza produttiva, andando ad interessare la velocità di crescita (risp. +6,50%, +7,20% e +7,50%), gli indici di conversione (risp. -7,70%, -8,40% e -8,20%), le rese in carcassa (risp. +7,50%, +7,80% e +8,40%) e in prosciutti di coscia (risp. +14,80%, +16,70% e +18,60%), nonché, per quest'ultimo taglio, i cali di refrigerazione (risp. -32,00%, -37,75% e -51,00%) e di rifilatura (risp. -6,90%, -10,70% e -11,30%).

Sempre in corrispondenza degli stessi dosaggi la biotina ha esercitato effetti positivi su alcune caratteristiche qualitative della carne e del grasso, con riferimento al grado di digeribilità (risp. +5,40%, +6,00% e +6,65% per le prot. dig. dopo digestione pepsinica *in vitro*) e al grado di tenerezza della carne (risp. -36,00%, -38,80% e -41,30% per il tessuto connettivo dopo digestione tripsinica *in vitro*) nonché al grado di insaturazione dei lipidi di copertura.

L'impiego della biotina alla dose di 100 p.p.b. di mangime non si è rivelato in grado di soddisfare le esigenze dei suini, considerati i modesti risultati ottenuti in merito all'efficienza produttiva degli animali.

Oltre ai rilievi ed alle osservazioni sulla qualità delle carcasse e delle carni fresche la ricerca si era prefissata lo scopo di valutare la qualità delle carni conservate, con particolare riferimento al prosciutto. Le indagini all'uopo espletate hanno fornito le risultanze, sulle quali ci accingiamo a relazionare.

## Materiali e metodi

Dopo aver effettuato presso lo stabilimento di macellazione di proprietà dei F.lli Sassi, sito nel comune di Colorno (PR), i rilievi sulla resa di macellazione e la valutazione delle carcasse alla spolpatura sui suini di controllo (gruppo 1) e su quelli alimentati con mangimi addizionati di biotina alle dosi di 100 p.p.b. (gruppo 2), di 200 p.p.b. (gruppo 3), di 300 p.p.b. (gruppo 4) e di 400 p.p.b. (gruppo 5) per un totale di 50 soggetti, 10 per ciascun gruppo, si è proceduto alla determinazione sui prosciutti destri del peso a caldo, dopo 24 h e dopo la rifilatura. Gli stessi prodotti sono stati quindi sottoposti a stagionatura, secondo la tecnica prevista per il "prosciutto di Parma", presso il prosciuttificio S. Pietro in Lesignano Bagni (PR) di proprietà dei F.lli Sassi per una durata di 400 giorni.

Al termine di tale periodo su tutti i prosciutti è stato determinato il peso stagionato e, dopo sezionatura, il peso del prodotto stagionato vendibile al dettaglio come affettato. Sono state poi calcolate le rese tecnologiche e commerciali.

A livello della faccia laterale, in corrispondenza della circonferenza massima, è stato determinato lo spessore del grasso sottocutaneo.

Le operazioni di disosso hanno portato alla divisione dei prosciutti in quarti, di cui uno corrispondente alla regione dorso-caudale nota come culatello. Su questa porzione, a livello della superficie di sezione trasversale rispetto all'asse maggiore del prosciutto, sono state eseguite le valutazioni strumentali del colore.

Il colore del magro è stato misurato con il colorimetro Minolta Chromameter Reflectance CR 200/08 sul muscolo semimembranoso. Lo strumento era stato previamente tarato con la piastrella bianca fornita dal costruttore (2÷4).

Successivamente alla misura del colore è stata prelevata dal quartino una fetta a tutto spessore di circa 200 g. Da tale campione sono state ricavate le parti corrispondenti ai muscoli semitendinoso e bicipite femorale, le quali, dopo omogeneizzazione, sono state utilizzate per la determinazione della composizione chimica centesimale (5), del contenuto in cloruro di sodio (6) e in azoto non proteico (6), della digeribilità pepsinica "in vitro", secondo la ben nota tecnica di Sjollem-Wedemeyer, della tenerezza, secondo il procedimento proposto da Schonberg e Lochmann (7), elaborato da Kruger (8) e basato sull'impiego della tripsina, adottando gli accorgimenti resi noti da uno di noi in altra memoria (9), alla quale si rimanda.

Su un campione di grasso sottocutaneo, prelevato in toto, si è proceduto alla determinazione del numero di iodio (10) e della composizione acidica mediante gascromatografia.

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:

$$y_{ij} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ij}$$

dove

$y_{ij}$  = singola osservazione;

$\mu$  = media generale;

$\alpha_i$  = effetto della dose ( $i = 1, \dots, 5$ );

$\varepsilon_{ij}$  = effetto casuale residuo.

## Risultati e conclusioni

Nella tab.1 sono compendiate i risultati ottenuti a seguito dei rilievi effettuati sui prosciutti di coscia al momento della macellazione. Dall'esame della tabella è possibile osservare che la biotina, alle dosi di 200 (gruppo 3), di 300 (gruppo 4) e di

Tabella n.1 - Parametri rilevati sul prosciutto destro (valori medi).

Gruppi		1	2	3	4	5
Peso a caldo	kg	13,64a ± 0,61	13,71a ± 0,52	15,94b ± 0,48	16,07b ± 0,50	16,35b ± 0,72
Peso dopo 24h	kg	13,30a ± 0,50	13,41a ± 0,46	15,67b ± 0,38	15,82b ± 0,45	16,15b ± 0,51
Calo di refrigerazione	%	2,49b ± 0,15	2,19b ± 0,21	1,69a ± 0,30	1,55a ± 0,26	1,22a ± 0,28
Peso dopo la rifilatura	kg	11,30a ± 0,45	11,45a ± 0,60	13,48b ± 0,56	13,70b ± 0,50	14,00b ± 0,49
Calo di rifilatura	%	15,00b ± 1,00	14,61b ± 0,90	13,97a ± 1,10	13,40a ± 0,96	13,31a ± 0,98

- a, b diversi per  $P < 0,05$ .

400 p.p.b. di mangime (gruppo 5), ha influenzato favorevolmente il peso del prosciutto a caldo (risp. 16,86 %, 17,81 % e 19,87%), a freddo (risp. 17,82 %, 18,95 % e 21,43 %) e dopo rifilatura (risp. 19,29 %, 21,24 % e 23,89 %).

Le differenze emerse dal confronto fra i suini trattati e i controlli (gruppo 1) hanno tutte raggiunto la significatività statistica ( $P < 0,05$ ).

Non significative ( $P > 0,05$ ) sono invece risultate le differenze fra i tre gruppi sperimentali. Anche le differenze fra i controlli e i soggetti che hanno ricevuto la biotina nella misura di 100 p.p.b. di mangime (gruppo 2) non hanno toccato il livello di significatività ( $P > 0,05$ ).

Nella tab. 2 sono raccolti i valori relativi alle rese tecnologiche e commerciali dei prosciutti stagionati, valori, in base ai quali, torna agevole rilevare che la biotina, alle dosi di 200 (gruppo 3), di 300 (gruppo 4) e di 400 p.p.b. di mangime (gruppo 5), ha condizionato positivamente la resa di stagionatura (risp. 2,50 %, 6,00 % e 7,00 %) e la resa in affettato vendibile sul prosciutto stagionato (risp. 1,70 %, 3,00 % e 3,80 %).

Tabella n.2 - Rese tecnologiche dei prosciutti stagionati (valori medi)

Gruppi		1	2	3	4	5
Peso prosciutto rifilato (p.r.)	Kg	11,30a ± 0,45	11,45a ± 0,60	13,48b ± 0,56	13,70b ± 0,50	14,00b ± 0,49
Peso prosciutto stagionato (p.s.)	Kg	8,13a ± 0,47	8,30a ± 0,38	9,93b ± 0,42	10,48c ± 0,35	10,80c ± 0,41
Resa di stagionatura	%	72,00a ± 1,15	72,50a ± 1,26	73,70b ± 1,00	76,50c ± 1,30	77,20c ± 1,24
Peso affettato vendibile	Kg	6,20a ± 0,40	6,35a ± 0,43	7,70b ± 0,35	8,25c ± 0,39	8,45c ± 0,36
Resa affettato vendibile (su p.r.)	%	54,86a ± 1,20	55,45a ± 1,31	57,12b ± 1,00	60,20c ± 1,18	60,35c ± 1,23
Resa affettato vendibile (su p.s.)	%	76,30a ± 1,05	76,50a ± 1,10	77,54b ± 1,11	78,72c ± 0,99	79,16c ± 1,03

- a,b,c, diversi per P< 0,05

A paragone con i controlli (gruppo 1) le differenze registrate per gli animali trattati hanno tutte trovato conferma attraverso l'elaborazione matematico-statistica (P<0,05). Pure significative (P<0,05) le differenze fra il gruppo 3 e i gruppi 4 e 5 a favore di questi ultimi.

Non significative (P>0,05) si sono dimostrate le differenze fra i controlli e i soggetti che hanno assunto i mangimi integrati con biotina alla dose di 100 p.p.b. (gruppo 2).

Nella tab. 3 sono riportati i dati concernenti lo spessore e il numero di iodio del grasso di copertura dei prosciutti stagionati. Per entrambi i parametri nessuna differenza significativa (P>0,05) è emersa dal confronto fra i controlli (gruppo 1) e i suini di esperimento (gruppi 2,3,4,5).

Tabella n.3 - Caratteristiche del grasso di copertura dei prosciutti stagionati (valori medi).

Gruppi	Spessore (cm)	n. iodio
1	1,60 ± 0,15	64,00 ± 0,93
2	1,54 ± 0,18	63,60 ± 0,82
3	1,52 ± 0,21	63,75 ± 0,85
4	1,48 ± 0,17	63,54 ± 1,00
5	1,50 ± 0,17	63,50 ± 0,90

Nella tab. 4 sono incluse le risultanze relative alle misure di colore (L\*, a\*, b\*, tinta e croma) effettuate sul muscolo semimembranoso.

Tabella n.4 - Misure di colore sui prosciutti stagionati (valori medi).

Gruppi		1	2	3	4	5
<u>M semimembranoso</u>						
Colore	L*	43,16 ± 2,26	44,22 ± 2,50	44,38 ± 3,14	43,95 ± 2,83	43,80 ± 2,64
	a*	15,31 ± 1,38	16,50 ± 1,00	16,10 ± 1,25	16,68 ± 1,42	16,34 ± 1,19
	b*	8,16 ± 0,75	7,69 ± 0,82	8,00 ± 0,91	7,50 ± 0,66	7,93 ± 0,75
Tinta		0,37 ± 0,05	0,41 ± 0,06	0,38 ± 0,04	0,35 ± 0,07	0,39 ± 0,07
Croma		16,60 ± 1,24	17,22 ± 1,39	16,49 ± 1,56	17,30 ± 1,18	16,86 ± 1,15

Le singole coordinate cromatiche hanno fatto registrare valori compresi entro i limiti della normalità (11,12) senza manifestare variazioni ( $P > 0,05$ ) riferibili ai particolari regimi alimentari adottati.

Nella tab. 5 sono contenuti i risultati dell'analisi chimica condotta sui muscoli semitendinoso e bicipite femorale. In base agli stessi risultati sembra possibile ammettere che vuoi la composizione centesimale vuoi i contenuti di cloruro di sodio e di azoto non proteico non hanno subito modificazioni statisticamente apprezzabili ( $P > 0,05$ ) a seguito dell'integrazione dei mangimi con biotina indifferentemente per i quattro dosaggi considerati (gruppi 2,3,4,5). I reperti osservati per i suini trattati e per i controlli (gruppo 1) collimano con quelli ritenuti consuetudinari per il ceppo di appartenenza dei soggetti.

Tabella n.5 - Composizione chimica centesimale dei muscoli semitendinoso e bicipite femorale nei prosciutti stagionati (% , valori medi).

Gruppi	1	2	3	4	5
Umidità	59,30 ± 0,90	59,10 ± 1,05	58,60 ± 1,10	58,45 ± 0,86	58,72 ± 1,18
Grasso g.	8,15 ± 0,83	8,00 ± 0,72	7,83 ± 1,00	7,50 ± 0,94	7,65 ± 0,89
Proteina g.	26,90 ± 1,17	27,00 ± 0,86	27,16 ± 1,13	27,30 ± 1,21	27,25 ± 1,15
Ceneri	5,24 ± 0,65	5,36 ± 0,58	5,72 ± 0,72	5,78 ± 0,66	5,84 ± 0,61
NaCl	5,51 ± 0,41	5,27 ± 0,50	5,30 ± 0,38	5,21 ± 0,42	5,32 ± 0,39
Azoto non proteico	28,12 ± 1,15	28,30 ± 1,00	28,00 ± 0,96	27,89 ± 0,78	27,50 ± 1,04

Nella tab. 6 figurano i risultati scaturiti dall'indagine condotta con la finalità di valutare, attraverso digestione pepsinica "in vitro", la digeribilità dei muscoli semitendinoso e bicipite femorale. I valori ottenuti consentono di rilevare che la carne dei suini alimentati con mangimi addizionati di biotina alle dosi di 200 (gruppo 3), di 300 (gruppo 4) e di 400 p.p.b. (gruppo 5) si palesa più digeribile nella comparazione con quella dei controlli (gruppo 1). Il coefficiente di digeribilità delle proteine ha infatti messo in evidenza differenze significative ( $P < 0,05$ ) pari, rispettivamente, al 4,70 %, al 7,50 % e al 8,00 %. Sono risultate significative ( $P < 0,05$ ) anche le differenze fra il gruppo 3 e i gruppi 4 e 5, a vantaggio di questi ultimi.

Non significativa ( $P > 0,05$ ) si è invece rivelata la differenza fra i controlli e i soggetti trattati con biotina alla dose di 100 p.p.b. di mangime (gruppo 2).

Tabella n.6 - Digeribilità pepsinica "in vitro" dei muscoli semitendinoso e bicipite femorale nei prosciutti stagionati (% , valori medi).

Gruppi	Proteine totali	Proteine indigerite	Proteine digeribili	Coefficiente di digeribilità
1	26,90 ± 1,17	3,28c ± 0,41	23,62a ± 0,63	87,80a ± 1,38
2	27,00 ± 0,86	2,94c ± 0,36	24,06a ± 0,55	89,10a ± 1,46
3	27,16 ± 1,13	2,20b ± 0,38	24,96b ± 0,70	91,90b ± 1,52
4	27,30 ± 1,21	1,55a ± 0,45	25,75c ± 0,58	94,32c ± 1,27
5	27,25 ± 1,15	1,42a ± 0,50	25,83c ± 0,49	94,80c ± 1,32

- a,b,c diversi per P<0,05

Nella tab. 7 sono riportati i risultati forniti dall'indagine condotta sempre sui muscoli semitendinoso e bicipite femorale con lo scopo di valutare la tenerezza della carne mediante digestione tripsinica "in vitro".

I dati registrati pongono in evidenza che la carne dei suini che hanno usufruito dei mangimi integrati con biotina alle dosi di 200 (gruppo 3), di 300 (gruppo 4) e di 400 p.p.b. (gruppo 5) si è rivelata più tenera nei confronti di quella dei controlli (gruppo 1).

Le differenze fra i contenuti di sostanza indigerita, rappresentata quasi totalmente da tessuto connettivo, hanno toccato quote pari, nell'ordine, al 28,00 %, al 49,00 % e al 50,00 % (P<0,05).

Hanno raggiunto la significatività statistica anche le differenze fra il gruppo 3 e i gruppi 4 e 5 in favore di questi ultimi.

Una differenza che non ha trovato conferma attraverso l'elaborazione matematico- statistica è invece emersa dal paragone fra i controlli e i soggetti trattati con biotina alla dose di 100 p.p.b. di mangime (gruppo 2).

Tabella n.7 - Digeribilità tripsinica "in vitro" dei muscoli semitendinoso e bicipite femorale nei prosciutti stagionati. Sostanza indigerita espressa in % sulla carne essiccata e sgrassata (valori medi).

Gruppi	Sostanza indigerita %
1	2,58c ± 0,36
2	2,40c ± 0,28
3	1,85b ± 0,42
4	1,31a ± 0,39
5	1,28a ± 0,46

- a,b,c diversi per P<0,05

Nella tab. 8 sono raccolte le risultanze relative alla composizione acidica del grasso di copertura dei prosciutti.

I valori registrati mostrano che la medesima composizione è caratterizzata da un grado di insaturazione compreso entro i limiti della normalità (11,13) e di entità statisticamente

non diversa ( $P>0,05$ ) nel confronto fra i suini di controllo (gruppo 1) e quelli trattati con biotina ai quattro dosaggi presi in considerazione (gruppi 2,3,4,5).

Tabella n.8 - Composizione acidica del grasso di copertura dei prosciutti stagionati ( %, valori medi).

Gruppi	1	2	3	4	5
Ac. laurico	0,72 ± 0,13	0,69 ± 0,11	0,65 ± 0,10	0,67 ± 0,12	0,66 ± 0,12
Ac. miristico	1,41 ± 0,08	1,40 ± 0,10	1,36 ± 0,09	1,38 ± 0,07	1,35 ± 0,08
Ac. palmitico	24,92 ± 0,80	25,00 ± 1,00	25,59 ± 1,10	25,77 ± 0,94	25,72 ± 0,96
Ac. palmitoleico	2,20 ± 0,23	2,24 ± 0,19	2,30 ± 0,25	2,35 ± 0,26	2,38 ± 0,28
Ac. eptadecenoico	0,27 ± 0,15	0,31 ± 0,17	0,36 ± 0,13	0,36 ± 0,18	0,40 ± 0,16
Ac. stearico	12,50 ± 0,71	12,76 ± 0,68	13,00 ± 0,80	13,11 ± 0,84	13,16 ± 0,86
Ac. oleico	48,30 ± 0,75	48,00 ± 0,70	47,21 ± 0,63	47,00 ± 0,81	47,00 ± 0,80
Ac. linoleico	8,52 ± 0,18	8,50 ± 0,20	8,46 ± 0,16	8,41 ± 0,14	8,40 ± 0,19
Ac. linolenico	0,65 ± 0,09	0,62 ± 0,10	0,65 ± 0,12	0,57 ± 0,11	0,54 ± 0,10
Ac. erucico	0,51 ± 0,10	0,48 ± 0,11	0,42 ± 0,09	0,38 ± 0,12	0,39 ± 0,13
Saturi	39,89 ± 2,00	40,31 ± 1,58	41,25 ± 1,84	41,59 ± 1,71	41,66 ± 1,69
Insaturi	60,11 ± 2,00	59,69 ± 1,58	58,75 ± 1,84	58,41 ± 1,71	58,34 ± 1,69
Rap. Saturi/insaturi	0,66 ± 0,08	0,67 ± 0,10	0,70 ± 0,09	0,71 ± 0,07	0,72 ± 0,06

Il complesso delle risultanze ottenute a seguito delle nostre indagini, condotte con lo scopo di valutare l'influenza esercitata dall'integrazione dei mangimi per suini all'ingrasso con biotina a diversi dosaggi (100, 200, 300 e 400 p.p.b.) sui prosciutti stagionati secondo la tecnica prevista per il "prosciutto di Parma" rende possibile la formulazione delle seguenti considerazioni e conclusioni:

- 1) - la biotina alle dosi di 200, 300 e 400 p.p.b. di mangime, ha esercitato effetti positivi sulla resa di stagionatura (risp. 2,50 %, 6,00 % e 7,00 %) e nei confronti della resa in affettato vendibile sul prosciutto stagionato (risp. 1,70 %, 3,00 % e 3,80 %);
- 2) - ai medesimi dosaggi la biotina ha inoltre condizionato favorevolmente alcune caratteristiche qualitative della carne, costituendo fonte di variazione per il grado di digeribilità (risp. + 4,70 %, + 7,50 % e + 8,00 % per le proteine digeribili dopo digestione pepsinica "in vitro") e per il grado di tenerezza (risp. - 28,00 %, - 49,00 % e - 50,00 % per il tessuto connettivo dopo digestione tripsinica "in vitro");
- 3) - per i suddetti parametri le migliori risultanze sono state ottenute allorché la biotina ha trovato posto nei mangimi alle dosi di 300 e di 400 p.p.b.. Nessuna apprezzabile modificazione in seno agli stessi parametri è stata invece osservata a seguito del ricorso alla biotina per una quota di 100 p.p.b.;
- 4) - la biotina, ai quattro dosaggi considerati, non ha determinato variazioni statisticamente accertabili nella composizione chimica centesimale e nel colore della carne nonchè nello spessore e nel grado di insaturazione del grasso di copertura.

Sulla scorta dei rilievi effettuati e delle osservazioni tratte ci sembra di poter concludere affermando che l'integrazione dei mangimi per suini all'ingrasso con biotina nella misura di 200, di 300 e di 400 p.p.b., oltre a svolgere una azione favorevole sull'efficienza produttiva e sulla qualità della carne fresca (1), si rivela anche in grado di promuovere effetti positivi sulle rese tecnologiche e commerciali nonchè su alcune caratteristiche qualitative dei prosciutti stagionati, dimostrandosi maggiormente efficace in corrispondenza degli ultimi due dosaggi.

Parole chiave: suino all'ingrasso, prosciutti, biotina.  
Key words: heavy swine, seasoned hams, biotin

RIASSUNTO - Gli Autori riferiscono i risultati ottenuti a seguito di indagini condotte con lo scopo di valutare la qualità dei prosciutti stagionati di suini all'ingrasso (p.v. di macellazione attorno ai 160 kg) alimentati con mangimi addizionati di biotina protetta mediante microincapsulazione con film di acidi grassi alle dosi di 100, di 200, di 300 e di 400 p.p.b. di sostanza attiva.

La biotina, alle dosi di 200, di 300 e di 400 p.p.b. di mangime, si dimostra in grado di influenzare positivamente la resa di stagionatura (risp. 2,50%, 6,00% e 7,00%) e la resa in affettato vendibile sul prosciutto stagionato (risp. 1,70%, 3,00% e 3,80%), nonché la digeribilità e la tenerezza della carne.

In corrispondenza del livello di integrazione di 100 p.p.b. la biotina non costituisce fonte di variazione per i suddetti parametri.

Indifferentemente per i tre dosaggi sperimentati la biotina non determina modificazioni nella composizione chimica centesimale e nel colore della carne, nello spessore e nel grado di insaturazione del grasso di copertura.

SUMMARY - *The use of biotin, as feed integrator, in heavy swine feeding : effects on seasoned hams.*

The Authors carried out a trial with the aim to value the quality traits of seasoned hams from heavy pigs (slaughter weight 160 kg) fed with rations integrated by biotin, protected after microencapsulation by fatty acids film at the doses of 100, 200, 300 and 400 p.p.b..

At the doses of 200, 300 and 400 p.p.b., biotin improved the seasoning yield (resp. 2.50%, 6.00% and 7.00%), the yield of saleable sliced ham as percent of seasoned ham (resp. 1.70%, 3.00% and 3.80%), the meat digestibility and tenderness.

At the dose of 100 p.p.b. biotin hasn't influenced the overmentioned parameters.

Chemical composition, meat colour, fat thickness and rate of insaturation of external adipose tissue were not modified by biotin treatment.

RÉSUMÉ - *Integration des aliments chez le porc à l'engraissement avec la biotine : effets sur les jambons affectées à la consommation.*

Les Auteurs présentent les résultats obtenus des recherches conduites dans le but d'évaluer la qualité des jambons des porcs à l'engraissement (poids vif à l'abattage : autour de 160 Kg) nourris avec l'aliment traditionnel additionné de biotine, celle-ci étant protégée par microencapsulation (films d'acides gras), dosés à 100, à 200, à 300 et à 400 µg par kg de substance active.

La biotine, aux doses de 200, 300 et 400 µg / kg d'aliment, est en mesure d'influer positivement sur le rendement de la maturation (resp. 2,50%, 6,00%, 7,00%) et sur le rendement de charcuterie vendable (resp. 1,70%, 3,00%, 3,80%). En revanche la biotine n'influe pas sur la digestibilité et la tendreté de la viande.

Pour un niveau d'incorporation de 100 µg / kg, la biotine ne constitue pas une source de variation pour les paramètres sus-cités.

Indifféremment pour les trois dosages expérimentaux, la biotine ne détermine aucune modification dans la composition chimique centésimale, ni de la couleur de la viande. Il en est de même pour l'épaisseur et le degré d'insaturation du gras de couverture.

## BIBLIOGRAFIA

1. BONOMI A., QUARANTELLI A., SABBIONI A., SUPERCHI P., BONOMI B.M. (1996) - L'impiego della biotina, in qualità di integratore, nell'alimentazione dei suini all'ingrasso. Riv. Sci. Alim.,25, 4,399.
2. NOVELLI E., CAMPESATO E., CAMPANINI G., DAZZI G., MADARENA G., BADIANI A., CHIZZOLINI R. (1991) - Valutazione strumentale della qualità della carne suina. 1. Premessa. Suinicoltura, 32, 2, 67.
3. MADARENA G., DAZZI G., CAMPESATO E., CAMPANINI G., NOVELLI E., BADIANI A., LEONELLI C., BARCHI D., CHIZZOLINI R. (1991) - Valutazione strumentale della qualità della carne suina: analisi dei risultati ottenuti dalla macellazione di gruppi eterogenei. Suinicoltura, 32, 3, 53.
4. CHIZZOLINI R., CAMPANINI G., BADIANI A., BARCHI D., LEONELLI C., MAGNANI U., PAROLARI G., SANDROLINI G. (1991) - Valutazione strumentale della qualità della carne suina. 3. Risultati di misure in linea su grande scala. Suinicoltura, 32, 4, 77.
5. A.O.A.C. (1984) - «Official Methods of Analysis», Association of Official Analytical Chemists, 14th ed., Washington DC.
6. BELLOTTI M., DAZZI G., CHIZZOLINI R., PALMIA F., PAROLARI G. (1983) - Modificazioni fisiche e chimiche delle proteine durante la maturazione del prosciutto di Parma. I - Trasformazioni biochimiche e funzionali. Industria conserve, 58, 143.
7. SHONBERG F., LOCHMANN E.M. (1957) Arch. Lebensmittelhyg, 8, 11.
8. KRUGER H. (1965) - Ein Beitrag zur Objektiven Bestimmung der Fleischqualität von Jungmastrindern. Verlag Paul Parey, Hamburg und Berlin.
9. BONOMI A. (1975) - Caratteristiche chimico-biologiche della carne di selvaggina in allevamento industriale. Avicoltura, 44, 3, 67.
10. GIULIANO R., STEIN M.L. (1978) - Quaderni di Chimica degli Alimenti, Grassi Alimentari, Cereali e Derivati. 4° Ed., Bulzoni Ed., Roma.
11. BONOMI A., SUPERCHI P., SABBIONI A., MAZZALI I., CHIZZOLINI R., CERATI C., MARTELLI G., ZAVATTINI S. (1992) - L'impiego della razza Duroc in incroci a più vie per la produzione del suino pesante: rilievi sui prosciutti stagionati. Suinicoltura, 33, 9, 61.
12. NANNI COSTA L., LO FIEGO D.P., RUSSO V., BENATTI L. (1990) - La qualità della carcassa e della carne nella produzione del prosciutto stagionato di Parma. Suinicoltura, 31, 5, 49.
13. LO FIEGO D.P., NANNI COSTA L., SANTORO P. (1990) - Caratteristiche del tessuto adiposo nel suino pesante italiano. Suinicoltura, 31, 5, 41.