

UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI BIOMEDICINA COMPARATA E ALIMENTAZIONE

SCUOLA DI DOTTORATO DI RICERCA IN SCIENZE VETERINARIE

INDIRIZZO SCIENZE CLINICHE VETERINARIE

CICLO XXV°

INDICI PRECOCI DEL RISCHIO D'INSORGENZA

DI STATI PATOLOGICI NEL POST-PARTUM

NELLA VACCA DA LATTE

DIRETTORE DELLA SCUOLA: Ch.mo Prof. Gianfranco Gabai

COORDINATORE D'INDIRIZZO: Ch.mo Prof. Maurizio Isola

SUPERVISORE: Ch.mo Prof. Massimo Morgante

DOTTORANDO: MARCELLO LORA

***Dedicato alle persone che hanno partecipato
allo sviluppo del progetto***

INDICE

1. ABSTRACT	1
2. RIASSUNTO	3
3. PREMESSA.....	5
4. INTRODUZIONE.....	7
4.1 Il Periodo di Transizione.....	7
4.2 Ingestione di sostanza secca.....	7
4.3 Fabbisogni e Bilancio Energetico Negativo (BEN)	8
4.4 Funzionalità Ruminale.....	8
4.5 Cambiamenti fisiologici del periodo di transizione.....	9
4.6 Regolazione del metabolismo energetico e omeostasi del glucosio.....	10
4.6.1 Insulinoresistenza.....	11
4.6.2 Insulinoresistenza e metabolismo lipidico.....	12
4.7 Problemi di salute associati al periodo di transizione.....	13
4.7.1 Disturbi legati al metabolismo energetico e all'assunzione di energia	14
4.7.2 Disturbi legati al metabolismo dei minerali	16
4.7.3 Disturbi legati al sistema immunitario	17
5. MATERIALI E METODI.....	21
5.1 Procedura sperimentale.....	22
5.1.1 Criteri di inclusione.....	22
5.1.2 Valutazione del BCS	22
5.1.3 Determinazione di campo della glicemia e della chetonemia	22
5.1.4 Test da Carico del Glucosio (GTT).....	23
5.1.5 Analisi biochimica di laboratorio.....	24
5.1.6 Test di valutazione per indice di Insulino-Resistenza	25
5.1.7 Raccolta dei dati clinici	25
5.1.8 Raccolta dei dati produttivi.....	26
5.2 Analisi statistica	26
6. RISULTATI.....	29
6.1 Indici Biochimici	29
6.2 Parametri Clinici e Produttivi.....	42

7. DISCUSSIONE	47
7.1 Indicatori Biochimici	48
7.2 Parametri Clinici e Produttivi	54
8. CONCLUSIONI	59
9. BIBLIOGRAFIA	61

1. ABSTRACT

Most of metabolic disorders of dairy cows occur within the transition and lead to most periparturient disease. The aim of this survey was to evaluate the correlation between some metabolic parameters (NEFA, BHB and glucose), glucose tolerance test (GTT), and BCS measured prepartum, and some postpartum diseases in dairy cows. The study was carried out on 179 multiparous Holstein cows from 5 high producing dairy farms located in northern Italy. Blood sampling before GTT (T0), GTT, and BCS evaluation was carried out 7 ± 5 d before and 7 ± 5 d after calving by each cow. For 93 animals blood samples were collected also 14 ± 5 d after calving. Beta-Hydroxybutyrate (BHB), Non-Esterified Fatty Acids (NEFA), Glucose (GLU), Insuline (INS), biochemical parameters and mineral elements were analyzed. BHB and glucose were also analyzed by a field test (Optium Xceed). For GTT, Glucose was administrated intravenously in a 50% solution at a dose of 0,25 g/Kg, and blood samples were performed also at 10 (T10) and 80 (T80) minutes after glucose infusion. Also some clinical and productive parameters during lactation were evaluated.

Continuous data were analyzed by ANOVA and discrete data were analyzed by comparison of k-proportions to verify the effect of some parameters on prevalence of postpartum diseases, productivity and biochemical analysis, using SIGMA STAT 3.7. Pearson's coefficients were also calculated between all the data collected.

The results show that cows with prepartum NEFA > 0.4 meq/l, measured on field BHB > 0.6 mmol/l, measured on field T0 GLU, or abnormal GLU T80/T0 ratio have higher prevalence of metritis, mastitis, abomasum displacement (AD) and retained placenta (RP) ($P < 0.05$). Was also found a positive correlation ($P < 0.05$) between prepartum NEFA (+0.27) and on field measured BHB (+0.26) and mastitis postpartum incidence. Moreover, was found a positive correlation ($P < 0.05$) between BHB obtained by laboratory test and AD (+0.27), and between prepartum serum globulines and PT, and postpartum occurrence of metritis (+0.39; +0.38) and mastitis (+0.29; +0.28).

These results suggest that, according to the literature, some parameters measured prepartum such as NEFA, BHB, and basal glucose could be used to asses metabolic risk of dairy cows to develop some postpartum diseases. Furthermore, probably also prepartum GTT, globulins and PT should be good indicators for that risk.

2. RIASSUNTO

La maggior parte delle malattie metaboliche della vacca da latte si verificano durante il periodo di transizione e sono alla base di molte delle patologie cliniche del periparto. Lo scopo di questo lavoro è stato quello di valutare la correlazione tra alcuni parametri metabolici (NEFA, BHB e glucosio), Test da Carico del Glucosio (GTT) e BCS misurati pre-parto, e alcune patologie del post-parto nella vacca da latte. Lo studio è stato effettuato su 179 vacche Frisone pluripare provenienti da 5 allevamenti ad alta produzione ubicati nel Nord Italia. Per ogni vacca sono stati effettuati un prelievo di sangue prima del GTT (T0), il GTT e la valutazione del BCS 7 ± 5 d prima e 7 ± 5 d dopo il parto. Per 93 animali i campioni di sangue sono stati prelevati anche 14 ± 5 d dopo il parto. Sono state fatte analisi per β -idrossibutirrato (BHB), Acidi Grassi Non Esterificati (NEFA), Glucosio (GLU), Insulina (INS), parametri biochimici ed elementi minerali. Il BHB e il glucosio sono stati misurati anche con un test di campo (Optium Xceed). Per il GTT, è stata somministrata per via endovenosa una soluzione glucosata al 50%, alla dose di 0,25 g/Kg, e sono stati prelevati campioni ematici a 10 (T10) e a 80 (T80) minuti dopo l'infusione. Inoltre, durante la lattazione, sono stati rilevati alcuni parametri clinici e produttivi. I dati continui sono stati analizzati mediante ANOVA e dati discreti mediante confronto tra k-proporzioni per verificare l'effetto di alcuni parametri su prevalenza di patologie, parametri produttivi e analisi biochimica, utilizzando SIGMA STAT 3.7. Sono stati calcolati anche i coefficienti di Pearson tra tutti i dati raccolti. Dai risultati emerge che le vacche con valori pre-parto di NEFA >0.4 mEq/l, BHB di campo >0.6 mmol/l, GLU T0 di campo >2.5 mmol/l, o alterato rapporto GLU T80/T0 hanno una maggiore prevalenza di metrite, mastite, dislocazione abomasale (DA) e ritenzione placentare (RP) ($P<0.05$). È stata inoltre trovata una correlazione positiva ($P<0.05$) tra NEFA pre-parto (+0.27) e BHB di campo (+0.26) e l'incidenza di mastite post-partum. Altre correlazioni positive ($P<0.05$) sono risultate tra BHB pre-parto misurato in laboratorio e DA (+0.27), e tra globuline e PT sieriche pre-parto e sviluppo di metrite (+0.39; +0.38) e di mastite (+0.29; +0.28) dopo il parto. Questi risultati suggeriscono che, come riportato in letteratura, alcuni parametri misurati pre-parto come NEFA, BHB e glucosio basale possono essere utili per valutare il rischio di bovine da latte di sviluppare alcune patologie post-parto. Probabilmente inoltre, anche GTT, globuline e PT pre-parto possono essere buoni indicatori per la valutazione di tale rischio.

3. PREMESSA

L'evoluzione genetica della vacca Frisone Italiana ha avuto negli ultimi decenni una spinta significativa verso la produttività e, in particolare, verso l'aumento del contenuto di proteina e di grasso nel latte, creando così una predisposizione dell'animale verso la lipomobilizzazione e la chetosi. Queste condizioni sono alla base, a loro volta, dello sviluppo di patologie post-partum, che rappresentano un grave problema per l'allevamento, a causa delle notevoli perdite economiche che esse comportano (diminuzione della produzione latte, maggior riforma degli animali, aumento delle spese per prestazioni veterinarie e per terapie farmacologiche).

L'insorgenza di tali patologie è strettamente legata alla gestione del periodo dell'asciutta. Tale periodo rappresenta un momento critico per la gestione della lattazione futura e per gli aspetti in campo della riproduzione, sia in senso positivo che in senso negativo. Nel caso di un'asciutta troppo anticipata si rischia di avere bovine che presentano bassi livelli di BCS e una produzione latte elevata, cosa che porta gli animali ad un livello di stress energetico-alimentare tale da indurre un ulteriore dimagrimento degli stessi durante l'intero periodo. Nel caso contrario si presenteranno bovine con valori di BCS elevato, che andranno incontro ad un periodo di asciutta caratterizzato da un'alimentazione ricca in fibra grezza che comporta una modifica sostanziale della fisiologia ruminale. Altri fattori importanti sono poi la dieta in fase di lattazione che deve garantire l'energia necessaria a superare la fase di bilancio energetico negativo. È evidente dunque che la strategia per ridurre l'incidenza di patologie postpartum deve essere quella della prevenzione. Oggi, il ruolo del veterinario aziendale è sempre più legato alla prevenzione e alla gestione manageriale della mandria, in quanto il miglioramento di indici come quelli produttivi e alimentari, e dello stato di salute e di benessere degli animali, ottimizzano le condizioni di sviluppo e di gestione di un'azienda, riuscendo così ad ottenere anche il massimo successo per l'allevatore. In quest'ottica, sarebbe molto importante avere la possibilità di stimare il rischio di sviluppo delle principali patologie peripartali attraverso l'uso di indicatori biochimici-metabolici.

Lo scopo del presente lavoro, dunque, è stato quello di valutare indici biochimici o metabolici, misurabili nel pre-parto, del rischio di insorgenza di stati patologici nel post-partum della vacca da latte.

4. INTRODUZIONE

4.1 Il Periodo di Transizione

Il “Periodo di Transizione” nella vacca da latte va dalle tre settimane precedenti al parto alle tre settimane successive al parto (Ingvarsen et al., 2003; Kelton et., al 1998).

Il termine “Transizione” sta a sottolineare gli importanti cambiamenti fisiologici, metabolici e nutrizionali che avvengono in questo arco di tempo. Il modo in cui questi cambiamenti avvengono e sono gestiti è di grande importanza, in quanto essi sono strettamente legati alle patologie cliniche e subcliniche del post-parto, e alle performance produttive e riproduttive future della bovina, che possono influire significativamente sul profitto dell'allevatore.

Esistono diversi lavori scientifici che trattano dei problemi metabolici e di salute legati all'aumento della produttività (Simianer et al., 1991; Jones et al., 1994; Emanuelson and Oltenacu, 1998) e delle perdite economiche conseguenti ad essi (Drackley, 1999). L'insorgenza di patologie durante il periodo di transizione è chiaramente un importante fattore di complicazione per le successive prestazioni riproduttive (Ferguson, 2001), che porta ad ulteriori perdite economiche.

4.2 Ingestione di sostanza secca

È ormai consolidato che l'ingestione di sostanza secca (**S.S. o DMI** – Dry Matter Intake) diminuisce in vicinanza del momento del parto. La diminuzione del DMI può andare dal 2% del Peso Vivo (**PV**) nelle prime due settimane del periodo di asciutta, fino al 1.4% PV nei 7 – 10 giorni precedenti al parto. Questo calo del 30% del DMI sembra avvenire molto rapidamente durante il periodo di transizione (Bertics et al., 1992; Hayirli et al., 1998; Robinson and Garrett, 1999). Successivamente, nelle prime tre settimane dopo il parto, il DMI comincia a crescere al tasso di 1.5 – 2.5 kg/settimana (Grant and Albright, 1995), e questo incremento è più rapido nelle multipare rispetto alle primipare (Kertz et al., 1991; Robinson and Garrett, 1999). Tuttavia c'è un'enorme variabilità individuale nella diminuzione pre-parto e nel successivo aumento post-parto del DMI (VandeHaar and Donkin, 1999).

La diminuzione del DMI pre-parto è classicamente attribuita al rapido accrescimento del feto che occupa sempre più spazio a livello addominale a scapito del volume

ruminale. Tuttavia, anche fattori ormonali e altri fattori fisiologici hanno un impatto importante su questo fenomeno (Grant and Albright, 1995; Robinson, 1997).

Durante l'ultima settimana di gravidanza quindi, la richiesta di nutrienti da parte del feto e della placenta è massima (Bell, 1995), ma il DMI può essere diminuito fino al 10 o 30% rispetto all'inizio dell'asciutta.

4.3 Fabbisogni e Bilancio Energetico Negativo (BEN)

Il fabbisogno energetico di una vacca a fine gravidanza arriva ad essere 1.3 o 1.5 volte il fabbisogno di mantenimento (Quigley and Drewry, 1998). La crescita dei tessuti fetali segue una curva esponenziale, iniziando dal terzo trimestre di gravidanza (Bell et al., 1995; House and Bell, 1994). Durante l'intero periodo di transizione le vacche hanno una richiesta di energia superiore rispetto a quella che riescono ad assumere. Le conseguenze sono, anche nelle vacche sane, il BEN e la contemporanea perdita di peso corporeo, per sopperire alla domanda energetica (Bell, 1995). Il BEN e la perdita di peso sono massimi nella prima settimana post-parto (Grummer, 1995). C'è comunque molta variabilità nell'entità del BEN, a seconda del Body Condition Score (**BCS**) al momento del parto (Garnsworthy, 1989), della gravità della diminuzione del DMI (Bertics et al., 1992), della qualità della razione, e della stagione.

Un grave BEN durante il periodo di transizione può risultare in sviluppo di patologie metaboliche, interparto prolungato e ritardo della prima ovulazione, e riduzione della fertilità (Butler et al., 1981). Un grave BEN può anche sottostare a lipidosi epatica con compromissione delle funzioni epatiche, compresa la detossificazione.

4.4 Funzionalità Ruminale

Non è raro per una vacca ad alta produzione nei primi 100 giorni di lattazione (**DIM** – Days In Milk) consumare 22kg di sostanza secca al giorno, dei quali più della metà è costituita da concentrati, senza che questo provochi particolari problemi se la dieta è ben bilanciata. Tuttavia, la stessa dieta se consumata da una vacca fresca può causare gravi problemi di acidosi. La grande differenza nella funzionalità ruminale tra queste due fasi produttive può spiegare le diverse riposte allo stesso tipo di dieta. Durante il periodo di asciutta, le vacche consumano una dieta che è principalmente composta da foraggi e, di conseguenza, che è più fibrosa di quella fornita durante la lattazione.

Questa differenza incide sulla funzionalità del rumine: la flora ruminale è adattata ad una dieta povera in **NFC** (Non-Fiber Carbohydrates) durante l'asciutta, che provoca un grande sviluppo di batteri cellulosolitici e uno scarso sviluppo degli amilolitici. Dato che i batteri amilolitici producono anche acido lattico, la loro diminuzione è accompagnata da una riduzione dei batteri lattico-utilizzatori (Goff, 1999). Se la razione cambia bruscamente al momento parto, la capacità della flora ruminale di metabolizzare acido lattico, il principale responsabile della acidosi ruminale acuta, è al minimo all'inizio della lattazione. Il numero di batteri produttori di acido lattico cresce rapidamente quando aumenta la quantità di NFC nella dieta, ma l'adattamento dei batteri lattico-utilizzatori è molto più lento (3 o 4 settimane). Quindi, il rischio di accumulo di acido lattico a livello ruminale è alto se c'è un brusco cambiamento della dieta da alto a basso contenuto di fibra. Inoltre, è ormai consolidato che quando il DMI cresce, aumenta anche il tasso di passaggio dal rumine. Dopo il parto, quando il DMI è relativamente basso, il tasso di passaggio è lento, permettendo una maggiore quantità di fermentazioni e di accumulo di acidi nel rumine. Se la quantità di NFC nella dieta aumenta bruscamente, con alti livelli di carboidrati fermentescibili, la quantità di acidi grassi volatili prodotti supera notevolmente la capacità di assorbimento ruminale, provocando elevate concentrazioni di acidi nel rumine. Questa condizione porta a fenomeni di Acidosi Ruminale Sub-Acuta (**SARA**) e contribuisce a ridurre il DMI e la digeribilità degli alimenti, oltre a causare laminiti nel primo periodo del post-parto.

4.5 Cambiamenti fisiologici del periodo di transizione

Durante il periodo di transizione, avvengono nella vacca diversi cambiamenti fisiologici che ne modificano drasticamente il metabolismo. Alla base di questi mutamenti ci sono il rapido aumento nella domanda energetica del feto e lo sviluppo della ghiandola mammaria, incluso l'inizio della sintesi dei componenti del latte. La domanda giornaliera per la crescita fetale e della placenta nelle ultime tre settimane di gestazione è di 360g di proteina metabolizzabile e da 3 a 5 Mcal di energia netta (Bell, 1995).

La concentrazione di insulina plasmatica diminuisce continuamente durante il periodo di transizione fino al parto, mentre la concentrazione di somatotropina (**GH**) aumenta rapidamente tra la fine della gestazione e l'inizio della lattazione. La concentrazione di progesterone plasmatico, che è alta durante la gravidanza, scende rapidamente al

momento del parto. Inoltre nel periodo peripartale c'è un transitorio aumento degli estrogeni e dei glucocorticoidi. Questi cambiamenti ormonali non contribuiscono solo alla diminuzione del DMI, ma coordinano anche i cambiamenti metabolici che favoriscono, anche se non necessariamente, la mobilizzazione delle riserve corporee dagli adipociti (Grummer, 1995). In seguito a questa mobilizzazione di lipidi, si osserva un aumento nella concentrazione plasmatica di Acidi Grassi Non Esterificati (**NEFA** – Non Esterified Fatty Acids), che è graduale nel periodo di transizione pre-parto, ma molto rapido negli ultimi 3 giorni di gestazione. Una parte dell'aumento dei NEFA è necessaria, ed è sotto controllo ormonale, mentre un'altra parte è il risultato di un deficit energetico (Bilancio Energetico Negativo – **BEN**) (Bertics et al., 1992; Grummer, 1995; Dyk and Emery, 1996). L'entità del livello di NEFA pre-parto, quindi, sembra essere una variabile che può essere controllata attraverso la gestione dell'alimentazione. Inoltre, il BEN e il conseguente aumento nei NEFA plasmatici, se sufficientemente alto, contribuisce allo sviluppo di lipidosi epatica, che è essa stessa un fattore predisponente per altre patologie tipiche del post-parto (Grummer, 1995; Dyk and Emery, 1996).

4.6 Regolazione del metabolismo energetico e omeostasi del glucosio

Il glucosio gioca un ruolo fondamentale nel metabolismo della vacca da latte. Nell'ultima settimana dello sviluppo fetale, si stima che il feto utilizzi il 46% del glucosio materno captato dall'utero (Bell, 1995). Inoltre, una vacca che produce 30 kg di latte al giorno usa almeno 2 kg di glucosio ematico per la sintesi del lattosio (Bell, 1996). La fine della gravidanza e l'inizio della lattazione, quindi, rappresentano un momento in cui c'è un massivo incremento nel fabbisogno di glucosio. Questo pone un'enorme sfida per il fegato, che deve sintetizzare tutto il glucosio a partire dal propinato e dagli amminoacidi, e per gli altri tessuti e organi, che devono adattarsi alla minore disponibilità dello zucchero stesso. Il glucosio è una risorsa molto importante anche per le ovaie, e la sua minore possibilità di utilizzo all'inizio della lattazione può influire negativamente sulla ripresa del ciclo ovarico dopo il parto (Rabiee et al., 1999). La concentrazione di insulina plasmatica cala drasticamente a fine gravidanza, e rimane bassa durante la prima settimana post-parto. Al contrario, il livello di somatotropina aumenta notevolmente e rapidamente dopo il parto. La somatotropina stimola la lipolisi a livello di adipociti, aumenta la risposta alle catecolamine e riduce quella all'insulina

(Bell, 1995; Block et al., 2001; Ingvarlsen, 2006). A livello di tessuto muscolare e di tessuto adiposo, il GH diminuisce l'azione dei recettori GLUT-4, diminuendo così l'assorbimento di glucosio in questi tessuti a favore del tessuto mammario, che è provvisto di recettori insulino-indipendenti. Il calo dell'insulina, associata alla diminuzione della sensibilità del tessuto adiposo alla stessa e all'aumento della somatotropina, porta quindi ad una riduzione della sintesi dei trigliceridi negli adipociti e favorisce la loro mobilizzazione (Bell, 1995; Lanna and Bauman, 1999). Per questo motivo, si osserva un aumento dei NEFA plasmatici al momento del parto.

La somatotropina, insieme al cortisolo elevato, stimola inoltre il fegato a produrre più glucosio. Questi cambiamenti coordinati nel metabolismo permettono alla vacca di rispondere all'accresciuta domanda di nutrienti per la sintesi del latte. Tuttavia, a causa di molti fattori, inclusi quelli sopra citati, i processi metabolici non riescono ad adattarsi completamente alla situazione, e un metabolismo non equilibrato porta a molti dei problemi tipici della vacca in transizione.

4.6.1 Insulinoresistenza

È definita insulinoresistenza (IR) la condizione in cui una determinata concentrazione di insulina produce una risposta minore rispetto alla normale risposta biologica (Kahn, 1978). La diminuzione della sensibilità all'insulina è presente quando la densità e l'affinità dei recettori per l'ormone risultano ridotte, mentre la diminuzione della risposta insulinica è associata ad una alterazione a valle dei recettori (Herzog, 2001). Una moderata insulinoresistenza durante la gravidanza è stata osservata in diverse specie di mammiferi (Johnson, 2008). Questo è il risultato di adattamenti "omeoretici" (Bauman and Currie, 1980) che avvengono nelle ultime fasi della gravidanza e che proseguono poi durante la lattazione: la riduzione della concentrazione dell'insulina e della risposta periferica all'insulina sopprime il consumo di glucosio da parte dei tessuti periferici, considerati tessuti insulino-dipendenti (come i muscoli e il grasso), e aumenta così la disponibilità del glucosio per i tessuti insulino-dipendenti (come la mammella) (Holtenius and Traven, 1990; Bell, 1995; Holtenius et al., 2003; Bossaert et al., 2008). Nonostante la diminuita assunzione di sostanza secca quindi, le bovine mantengono elevate produzioni perché la ghiandola mammaria ha una via preferenziale nell'assorbimento del glucosio. Tutto questo si realizza per (Kasper et al, 2005):

- diminuzione del consumo di glucosio in tessuti extra-mammari;
- massimizzazione della produzione di glucosio epatico;
- mobilitazione delle riserve energetiche per fornire energia ai tessuti extra-mammari.

Lo scopo dell'insulinoresistenza è quello di favorire comunque l'energia al feto, anche se ci sono notevoli cambiamenti dello stato energetico nella madre (Pettersen et al., 1993), e di favorire la captazione di glucosio da parte della mammella per supportare la lattazione (Bauman and Elliot, 1983). Non deve stupire quindi che la selezione genetica per una produzione lattea elevata risulti in stati ipoinsulinemici (Bonczek et al., 1988).

Anche l'estradiolo sembra essere coinvolto nei meccanismi preparto di IR, tramite una riduzione dell'espressione genica dei recettori per l'insulina (Butler, 2010).

La valutazione in vivo della risposta all'insulina nei bovini è complicata dai bassi livelli sia di insulina che di glucosio ematici, tipici dei ruminanti, e dal fatto che il metabolismo del glucosio, in lattazione, è per l'80% indipendente dall'insulina stessa (Holtenius and Holtenius, 2007). La valutazione viene quindi fatta tramite il Test da Carico del Glucosio, misurando cioè le concentrazioni ematiche di glucosio e insulina in seguito a somministrazione endovenosa di una soluzione glucosata. In gravidanza la risposta al carico di glucosio è caratterizzato da un rilascio più elevato di insulina; tale risposta è influenzata dalle concentrazioni di cortisolo, estrogeni e progesterone. Gli animali resistenti all'insulina hanno una permanenza prolungata di glucosio nel sangue, e mostrano un picco più elevato e prolungato di insulina dopo una somministrazione di glucosio per via endovenosa (Hove, 1978). La concentrazione di insulina aumenta rapidamente dopo il carico di glucosio fino a raggiungere un picco massimo, rimane elevata per un breve periodo di tempo, e torna poi a livelli basali entro 1-2 ore dopo la fine dell'infusione di glucosio (Hove, 1978; Moate et al, 2007).

4.6.2 Insulinoresistenza e metabolismo lipidico

L'insulinoresistenza è un processo fisiologico che può risultare esacerbato e prolungarsi oltre tempo in presenza di alterazioni legate al metabolismo lipidico. Una concentrazione di NEFA elevata causa l'inibizione della captazione insulinodipendente del glucosio e del suo impiego da parte dei tessuti periferici esitando in IR e

accentuando ulteriormente la lipolisi (Oikawa and Oetzel, 2006). Questo perché i NEFA interferiscono con la via intracellulare di trasmissione del segnale (Butler, 2010). Secondo uno studio di Balogh et al. (2008), NEFA e BHB sono correlati negativamente all'utilizzazione di glucosio nei tessuti periferici e alla secrezione pancreatica di insulina; i NEFA, in particolar modo, compromettono la omeostasi del glucosio, mentre alti livelli di BHB sono coinvolti principalmente nell'alterata risposta all'insulina. La maggiore lipolisi e la minore ingestione durante il periodo di transizione, in una vacca con BCS > 4, possono essere spiegati dal fatto che un aumento della massa adiposa è associato ad una maggiore dimensione degli adipociti e ad una diminuita risposta al BHB, ai glucocorticoidi e all'insulina (Rukkwamsuk et al., 1999; Herdt, 2000). L'insulina, infatti, favorisce la lipogenesi e ostacola il catabolismo lipidico. È stato dimostrato inoltre che una ipernutrizione, anche moderata, di una bovina da latte nel periodo dell'asciutta stimola l'espressione di geni negli epatociti in grado di predisporli all'accumulo di lipidi (Lor et al., 2006). L'espressione di questi geni sarebbe indotta da alti livelli ematici di insulina nel parto.

4.7 Problemi di salute associati al periodo di transizione

Le condizioni descritte sopra favoriscono l'insorgenza di problemi di salute durante il periodo di transizione. Entro questo periodo, la più alta incidenza di patologie da produzione si concentra nei primi 10 giorni post-parto (Ingvarsen et al 2003, Kelton et al 1998). I principali problemi metabolici gravitano attorno a 3 assi principali:

- 1- disturbi legati al metabolismo energetico (lipidosi epatica, chetosi, SARA);
- 2- disturbi legati al metabolismo dei minerali (collasso puerperale, ipocalcemia sub-clinica, edema della mammella);
- 3- disturbi legati al sistema immunitario (ritenzione della placenta, metrite, mastite).

Questi tre tipi di problemi sono interconnessi tra loro, e le condizioni che portano allo sviluppo di una patologia in una categoria possono portare a disturbi anche in altre categorie. Per esempio, il collasso puerperale o ipocalcemia subclinica possono sottostare alla perdita di tonicità muscolare che porta ad un aumento del rischio di ritenzione placentare e/o dislocazione abomasale, anche se la ritenzione placentare è stata classificata come problema legato al sistema immunitario (LeBlanc, 2010).

Inoltre le vacche più anziane sembrano essere maggiormente a rischio di ritenzione placentare, collasso puerperale, e mastite. Le vacche con ritenzione placentare sembrano essere più a rischio di sviluppo di mastite e chetosi. Le vacche con chetosi sono maggiormente a rischio di sviluppare dislocazione abomasale (Curtis et al., 1985). In generale, la prevenzione di un problema può diminuire la probabilità dello sviluppo di altri.

4.7.1 Disturbi legati al metabolismo energetico e all'assunzione di energia

La mobilizzazione dei lipidi all'inizio della lattazione è un processo normale e necessario per permettere alla vacca di soddisfare la propria richiesta energetica per la lattazione. Tuttavia, quando la quantità e/o la velocità di mobilizzazione sono eccessive, l'incidenza di disturbi metabolici aumenta notevolmente. Non è raro trovare una vacca in chetosi che abbia anche problemi di lipidosi epatica e dislocazione dell'abomaso. Anche l'acidosi ruminale è un problema frequente nelle vacche all'inizio della lattazione, per via delle razioni molto fermentescibili e dell'insufficiente adattamento ruminale a queste razioni.

- ***Chetosi e lipidosi epatica***

I lipidi, depositati nel tessuto adiposo, sono in forma di trigliceridi, che vengono mobilizzati come NEFA e glicerolo. I NEFA hanno 3 destini auspicabili:

- 1- essere utilizzati dalla ghiandola mammaria per la sintesi del grasso del latte;
- 2- essere utilizzati dai tessuti periferici come fonte di energia;
- 3- essere riesterificati dal fegato in trigliceridi e trasportati nelle Very Low Density Lipoproteins (**VLDL**).

L'ossidazione completa dei NEFA genera Acetil Coenzima A, che può essere usato per produrre energia nel Ciclo di Krebs. L'efficiente ossidazione dell'acetil-CoA dipende da un'adeguata fonte di ossalacetato, che permette agli acetili di entrare nel ciclo degli acidi tricarbossilici. In una condizione di ipoglicemia però, l'ossalacetato subisce una progressiva deplezione poiché viene dirottato verso l'intenso metabolismo gluconeogenico. In carenza di acido ossalacetico, l'acetil-CoA non può più essere sfruttato nel ciclo di Krebs e viene deviato a produrre chetoni (aceto acetato, acetone, β -

idrossibutirrato – **BHB**). Se i chetoni raggiungono concentrazioni elevate nel sangue, la vacca è considerata in chetosi.

La normale concentrazione plasmatica di chetoni (usando il BHB come indicatore) è inferiore a 10 mg/dl. La chetosi clinica è tale quando la concentrazione è superiore a 35 mg/dl. Concentrazioni intermedie tra questi due valori determinano chetosi subclinica (Drackley, 1997). Quando il BHB raggiunge valori ematici di 1400 $\mu\text{mol/l}$ (14.6 mg/dl), l'incidenza di disturbi metabolici aumenta, e quando il valore è attorno a 2000 $\mu\text{mol/l}$ (20.8 mg/dl) la produzione di latte inizia a risentirne (Duffield, 1997).

Quando la mobilizzazione di lipidi è elevata e il fegato riesterifica i NEFA a trigliceridi, la produzione di VLDL non avviene abbastanza velocemente per trasportarli fuori dal fegato stesso, e perciò iniziano ad accumularsi al suo interno. Questo perché il fegato ha una produzione ristretta di VLDL, per la capacità limitata che ha di produrre apoproteina B, che ne è il componente chiave (Marcos et al., 1990; Grummer, 1995). Una volta depositati, i lipidi accumulati nel fegato vi rimangono fino a che termina il BEN (Grummer, 1993).

Un importante accumulo di lipidi nel fegato con danno e/o ridotta funzionalità epatica (Van den Top et al., 1996) compromette, oltre alle altre cose, la sintesi di glucosio. La maggior parte del glucosio di cui la vacca ha bisogno è sintetizzato per mezzo della gluconeogenesi epatica, a partire da acido propionico, amminoacidi, e glicerolo liberato dal tessuto adiposo. A questi propositi, le vacche grasse hanno un aumento del 446% di NEFA ematici al terzo giorno post-parto rispetto alla concentrazione di NEFA pre-parto, mentre le vacche normali hanno un aumento del 123%. Allo stesso modo, la concentrazione di lipidi nel fegato di vacche grasse aumenta del 514% al terzo giorno post-parto mentre le vacche normali hanno un aumento del 97%. L'attività degli enzimi epatici indica che la capacità gluconeogenetica della vacca grassa è compromessa (Rukkwamsuk et al., 1999).

Per minimizzare la predisposizione delle vacche alla chetosi e alla lipidosi epatica è necessario evitare una perdita eccessiva di peso durante il periodo di transizione minimizzando l'entità del BEN. La perdita di peso, la mobilizzazione dei lipidi, il BEN, l'aumento dei NEFA plasmatici, e l'accumulo di lipidi nel fegato sono inevitabili in tutte le vacche ad alta produzione. Tuttavia, tutto questo deve essere ridotto al minimo. Bisogna cercare il più possibile di massimizzare il DMI, aumentare la densità di energia

nella dieta senza alterare la funzionalità ruminale, e mantenere il BCS vicino ai livelli raccomandati per questo periodo critico.

- ***Dislocazione dell'abomaso***

La dislocazione abomasale (**DA**) è una patologia chirurgica frequente negli allevamenti di vacche da latte ad alta produzione (Robertson, 1968; Robb et al., 1986). Questa malattia aumenta il rischio di riforma precoce, di altre patologie, e riduce la produttività dell'animale (Geishauser et al., 1998). È ovvio che altri disturbi possono aumentare il rischio di DA.

Studi epidemiologici hanno dimostrato una correlazione tra DA e razza, età, ordine di parto, e stagione (Markusfeld, 1987; Constable et al., 1992). L'ipocalcemia aumenta il rischio di DA (Massey et al., 1993), probabilmente per il ruolo del calcio nel tono muscolare. Anche l'alimentazione è implicata nell'incidenza di DA, e i fattori nutrizionali sono controllabili (Coppock, 1974; Cameron et al., 1998). Questi fattori sono: alto BCS al parto; eccessiva perdita di peso; elevati NEFA plasmatici (Cameron et al., 1998); riduzione del DMI durante il periodo di transizione (Constable et al., 1992); ridotto rapporto foraggi/concentrati (Shaver, 1997). Di conseguenza, la gestione dell'alimentazione, studiata per ridurre il calo di DMI pre-parto e aumentare rapidamente il DMI post-parto, ridurrà i rischi associati alla DA. Logicamente, la riduzione di una qualunque delle patologie da produzione (collasso puerperale, chetosi, metrite, ritenzione placentare) ridurrà il rischio di DA. L'aumento della densità di energia della dieta pre-parto tramite i cereali ha effetto dubbio sulla DA. Questo perché se non si aumentano i NFC, la parete ruminale non sarà pronta al brusco incremento di concentrati del post-parto, cosa che accrescerà il rischio di DA (Shaver, 1998). Inoltre, se la dieta di transizione pre-parto è troppo scarsa in energia, il NEB porterà sicuramente ad altri fattori di rischio di DA, come discusso in precedenza.

4.7.2 Disturbi legati al metabolismo dei minerali

- ***Ipocalcemia clinica (collasso puerperale) e sub-clinica***

Alcuni studi indicano che le vacche che hanno avuto collasso puerperale (ipocalcemia clinica) producono il 14% in meno nella lattazione successiva e la loro carriera produttiva è ridotta di circa 3.4 anni rispetto alle vacche che non hanno avuto collasso

puerperale (Block, 1984; Curtis et al., 1984). Inoltre, vacche che guariscono dal collasso puerperale hanno un maggior rischio di sviluppare chetosi, mastite (soprattutto da coliformi), distocia, dislocazione abomasale sinistra, ritenzione placentare, e collasso puerperale in una lattazione successiva (Curtis et al., 1984; Wang, 1990; Oetzel et al., 1988).

Il calcio è necessario per la contrazione muscolare. Una grave ipocalcemia (Ca ematico < 6 mg/dl) impedisce la contrazione dei muscoli scheletrici, al punto da determinare l'ipocalcemia clinica. La contrazione muscolare diminuisce a causa di qualsiasi riduzione della concentrazione di calcio nel sangue. Tuttavia, questa deve essere grave per osservare il "collasso puerperale". Daniel et al. (1983) hanno dimostrato che il tasso e la forza di contrazione e della muscolatura liscia del tratto intestinale è direttamente proporzionale alla concentrazione di calcio nel sangue. L'ipocalcemia riduce le contrazioni abomasali, cosa che provoca il riempimento dell'abomaso di gas e la sua dislocazione. Naturalmente, la mancanza di fibra è l'altro fattore che causa la DA. Una delle principali ragioni per l'attuale tendenza verso diete ad alto contenuto di paglia per il close-up è la capacità di questi tipi di diete di prevenire la DA (Goff, 2008).

L'ipocalcemia subclinica è tale quando i segni clinici della patologia sono assenti, ma il calcio ematico diminuisce molto vicino al parto (< 8 mg/dl). Come per il collasso puerperale, l'ipocalcemia sub-clinica può provocare riduzione del DMI post-parto, distocia, chetosi, e ritenzione placentare.

4.7.3 Disturbi legati al sistema immunitario

Durante il periodo di transizione, quasi tutte le vacche da latte vengono a trovarsi in uno stato di immunodepressione più o meno grave: la funzione neutrofilica, linfocitaria, e la risposta anticorpale risultano alterate (Mallard et al., 1998; Kehrli et al., 2006).

Una elevata concentrazione di estrogeni, di catecolamine e di glucocorticoidi al parto alterano le funzioni del sistema immunitario (Lacetera et al., 2005), in particolare riducendo l'attività neutrofilica (Goff and Horst, 1997). Inoltre, lo stress fisico e metabolico della gravidanza, del parto e della lattazione, contribuisce alla diminuzione delle difese della bovina e al conseguente aumento nell'incidenza di patologie (Mallard et al., 1998). All'immunosoppressione segue una condizione infiammatoria che dipende dal rilascio di citochine pro-infiammatorie (Grimble, 1990), prime fra tutte le interleuchine 1 e 6 (**IL-1** e **IL-6**) e il Tumor Necrosis Factor α (**TNF- α**). Recentemente

sono state messe in evidenza da Drackley et al. (2005) numerose cause del rilascio di tali citochine nel periodo del parto, quali malattie infettive o metaboliche, parassitosi, traumi, endotossine e fattori stressanti.

Il potenziale effetto delle citochine pro-infiammatorie sulle bovine durante il periodo di transizione può variare in base alla durata del loro rilascio. Le conseguenze principali, comunque, coinvolgono l'attività riproduttiva, la sintesi epatica e l'anoressia.

A livello epatico le citochine stimolano la produzione delle proteine positive di fase acuta, come l'aptoglobina, ceruloplasmina e siero amiloide-A (Ametaj et al., 2002; Katoh, 2002) e inibiscono la sintesi di proteine negative della fase acuta, come l'albumina e transferrina (Bertoni et al., 2008; Fleck, 1989). Inoltre riducono la sintesi di apolipoproteine, cosa che aggrava l'accumulo di trigliceridi negli epatociti, predisponendo alla steatosi e alla chetosi. Il fegato steatotico riduce anche la sua capacità detossificante nei confronti delle endotossine prodotte dal processo infiammatorio stesso (Breukink and Wensing, 1997). Le citochine quindi possono esacerbare il bilancio energetico negativo (Pryce et al., 2001) e aumentare il rischio di steatosi epatica (Katoh, 2002).

La steatosi epatica può interferire con la risposta immunitaria direttamente, alterando la capacità del fegato di sintetizzare e degradare i componenti del sistema immunitario (Katoh, 2002), oppure indirettamente intervenendo nei cambiamenti metabolici e ormonali che influiscono sulle funzioni immunitarie (Breukink and Wensing, 1997). La situazione di bilancio energetico negativo, inoltre, esacerba questa condizione (Hammon et al., 2006). Se si sviluppa una condizione di chetosi, che, come già accennato, spesso segue ad uno stato di steatosi epatica, anche l'azione linfocitaria è depressa (Sato et al., 1995).

Le citochine inducono anche stress immunitario e peggiorano lo stato anoressico intorno al periodo del parto.

Infine, esse interferiscono anche con il rilascio di LH, cosa che può influire negativamente sull'attività riproduttiva (Braden et al., 1998).

Tutti questi effetti possono contribuire a una diminuzione della produzione latte (Bionaz et al., 2007) e della fertilità (Calamari et al., 1997; Bertoni et al., 2000); in particolare, i maggiori problemi di fertilità sono stati riscontrati nelle bovine che presentavano malattie del parto e patologie infettive come la mastite (Schrack et al.,

2001). Tra le patologie peripartali la cui eziologia è più connessa al processo di immunodepressione vi sono la ritenzione placentare, la metrite e la mastite.

- ***Ritenzione placentare***

La ritenzione placentare (**RP**) predispone alla contaminazione batterica e ritarda il ritorno in calore, impedendo la corretta involuzione uterina (Laven and Peters, 1996). L'evento chiave nella patogenesi della ritenzione è il mancato distacco tra cotiledoni e caruncole una volta terminato lo sviluppo fetale; essendo questo evento mediato dalla migrazione leucocitaria, in particolare dai neutrofili, una eventuale deficienza nella chemiotassi, come osservato da Kimura (2002), può essere determinante.

- ***Metrite***

Come conseguenza di una ritenzione placentare si può sviluppare un episodio di metrite, infiammazione dell'intera parete uterina, che si manifesta con depressione, febbre e scoli vaginali fetidi. L'insorgenza della metrite è strettamente correlata anche all'ingestione e al bilancio energetico (Huzzey et al., 2007).

- ***Zoppia***

In seguito ad episodi infiammatori che coinvolgono l'apparato riproduttivo possono essere rilasciate endotossine in circolo. Il coinvolgimento dei piedi, soprattutto degli arti posteriori, in seguito a diffusione di queste sostanze non è un fatto raro e risulta in una complicazione di una situazione già di per sé critica: la circolazione sanguigna, già compromessa prima del parto dall'edema che coinvolge tutto il treno posteriore, è alterata anche in seguito al rilassamento dei legamenti che sospendono la terza falange. Inoltre la prolattina riduce la crescita e la formazione dello stato corneo, che risulta indebolito, e la crescente concentrazione di glucocorticoidi rallenta la produzione dei cheratociti (Hendry et al., 1999). Tutto questo esita in zoppie e patologie podali.

5. MATERIALI E METODI

Il presente studio è stato condotto nel periodo compreso tra Marzo 2011 e Settembre 2011.

Le ricerche sono state effettuate su 179 bovine da latte di razza Frisone situate in 5 aziende zootecniche della Provincia di Vicenza iscritte alla Associazione Provinciale Allevatori (APA). Gli animali allevati erano a stabulazione libera e alimentati con tecnica unifeed. Ogni azienda aveva un numero minimo di 170 animali in lattazione e una produzione media di 100 q.l. Tutte le aziende effettuano un periodo di asciutta di circa 60 giorni, con steaming-up di 15 giorni prima del parto.

La Tabella 1 mostra la razione tipo di unifeed delle vacche da latte utilizzata nelle 5 aziende.

Tabella 1. Alimentazione tipo eseguita nelle aziende

PERIODO	STEAMING-UP	LATTAZIONE
Proteina grezza	12.87	16.66
Estratto etereo	4.55	5.32
Ceneri	7.83	7.34
NDF	43.99	33.41
NFC	33.56	38.27
S.S. degr.	59.68	68.22
ADF	24.46	20.12
Amido	16.49	25.94
Calcio	0.41	0.98
Fosforo	0.24	0.43
Magnesio	0.29	0.31
Sodio	0.11	0.62
Potassio	0.51	1.39
Cloro	0.19	0.28
Zolfo	0.16	0.21

5.1 Procedura sperimentale

5.1.1 Criteri di inclusione

In 5 aziende sono state selezionate circa 35 ± 5 bovine pluripare su cui svolgere lo studio. La scelta si è basata sulla valutazione dello stato di salute, di nutrizione e della carriera produttiva delle stesche, effettuata due settimane prima della data prevista di parto.

Sono stati inclusi nel campione in totale 179 animali, divisi nelle 5 aziende.

Su ogni animale, a 7 ± 5 giorni prima del parto e a 7 ± 5 giorni dopo il parto, sono stati effettuati i seguenti interventi:

- prelievi ematici;
- test di campo per la valutazione della glicemia e della chetonemia;
- Test da Carico del Glucosio (GTT);
- valutazione del BCS.

A 14 ± 5 giorni dopo il parto è stato effettuato un ulteriore intervento su 93 animali.

Infine, per tutti gli animali sono stati raccolti i dati relativi all'insorgenza di patologie del post-parto e quelli relativi alla produzione di latte nella lattazione considerata.

5.1.2 Valutazione del BCS

Lo stato di ingrassamento (**BCS** – Body Condition Score) è stato valutato secondo il metodo Edmondson et al. (1989), per ispezione e palpazione degli animali, dando un punteggio su scala da 1 a 5, dove 1 indica un animale emaciato e 5 indica un animale obeso. Sono previsti punteggi intermedi di un quarto di punto.

5.1.3 Determinazione di campo della glicemia e della chetonemia

Lo strumento utilizzato in campo per la determinazione della glicemia a T0, T10 e T80 è L'OPTIUM XCEED, che è uno strumento in uso anche in medicina umana per valutare la glicemia nei pazienti diabetici.

Lo stesso strumento ha permesso di valutare anche la chetonemia a T0.

Il suo utilizzo è molto semplice, in quanto necessita solamente di una goccia di sangue per effettuare l'analisi. Il funzionamento si basa su un principio di misura di tipo elettrochimico. Nello strumento vanno inserite delle apposite strisce reattive, diverse a seconda che si voglia ottenere il valore di glicemia o di chetonemia. La reazione del glucosio (o BHB) presente nella goccia di sangue con i reagenti chimici presenti nelle

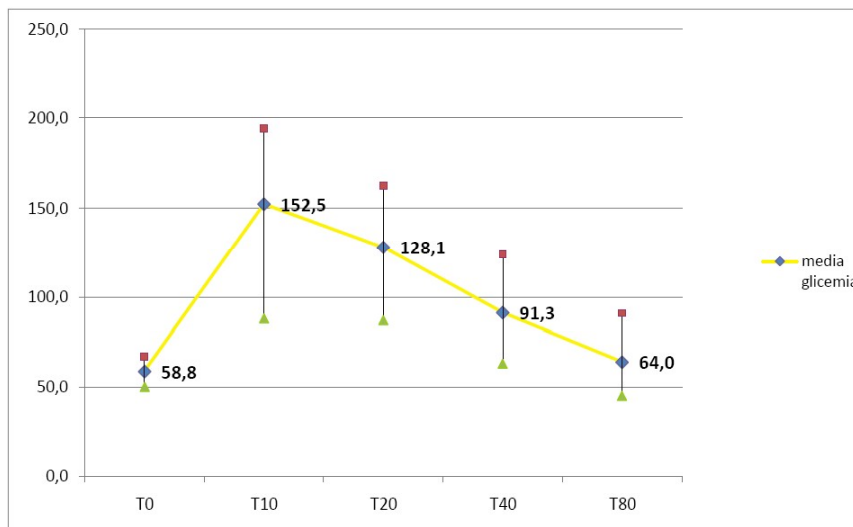
strisce genera una piccola corrente elettrica, che viene misurata dallo strumento e trasformata in un valore visualizzabile sul display dopo qualche secondo. Il range di misura del glucosio è di 20-500 mg/dl (1.1 - 2.78 mmol/L), mentre quello del BHB è di 0.0 - 8.0 mmol/L.

5.1.4 Test da Carico del Glucosio (GTT)

Il Test da Carico del Glucosio viene effettuato al fine di valutare l'insulino-resistenza delle bovine in esame, tipica della fase di transizione.

La tecnica prevede in primo luogo il prelievo di un campione di sangue (**T0**) dalla vena giugulare per la valutazione della glicemia basale. Sono stati utilizzati aghi da 22 G e vacutainer (BD Vacutainer Systems®, Preanalytical Solutions, Plymouth, UK) contenenti Litio-eparina. Il campione è stato analizzato sia con un test rapido di campo (OPTIUM XCEED) che con analisi di laboratorio (IZS Venezia). Si procede poi con la somministrazione per via endovenosa (vena giugulare opposta a quella del prelievo precedente), tramite deflussore, di soluzione di glucosio al 50% alla dose di 0.25 mg/kg PV. Terminata l'infusione si effettuano altri due prelievi ematici a tempi prestabiliti: a 10 minuti (**T10**) e a 80 minuti (**T80**) dopo il termine dell'infusione. Anche questi campioni sono stati analizzati sia con test di campo (OPTIUM XCEED) che con test di laboratorio (IZS Venezia). La scelta dei tempi di prelievo si è basata su uno studio di Giancesella et al. (2009), che aveva creato una curva glicemica per la razza Frisone (Grafico 1), da cui si ricava sia il tempo necessario per ottenere la concentrazione massima di glucosio ematico, sia quello necessario per il ritorno della glicemia ai valori basali. Dalle analisi di laboratorio sono stati ricavati i valori di glicemia e insulina a T0, T10 e T80.

Grafico 1. Andamento della glicemia in animali di razza Frisona sottoposti al Test da Carico del Glucosio (Glicemia espressa in mg/dl)



5.1.5 Analisi biochimica di laboratorio

I campioni ematici sono stati analizzati entro 10 ore dalla raccolta, previa centrifugazione. È stata utilizzata la centrifuga Labofuge 400, ad una velocità di 3500 giri al minuto per 10 minuti. Il plasma ottenuto è stato stoccato in aliquote conservate alla temperatura di -18°C .

L'analisi biochimica è stata effettuata sul plasma al T0, prima dell'infusione endovenosa di soluzione glucosata, presso il Laboratorio di Analisi di Clinica Medica dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie.

Sono stati ottenuti i seguenti parametri: albumina gr/dl, Ca mg/dl, Cl mmol/l, P mg/dl, globuline gr/dl, glucosio mmol/l, AST u/l, ALT u/l, Mg mg/dl, K mmol/dl, Na mmol/l, PT g/dl, Urea mg/dl, NEFA meq/l, BHB mmol/l.

Tutti i campioni sono stati testati con la macchina Cobas c 501 analyzer (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany): Glucosio, glucose HK test (kit no. 04404483190VB, Roche Diagnostics); NEFA, test colorimetrico NEFA RX Monza test (kit no. FA 115, Randox, Crumlin, UK); BHB, con metodo UV cinetico RANBUT RX Monza test (kit no. RB 1007, Randox, Crumlin, UK).

Le aliquote dei campioni basali (T0) per la determinazione dell'insulina sono state analizzate dal Laboratorio di Endocrinologia Animale, Dipartimento di Scienze della Vita e Biotecnologie, dell'Università di Ferrara con metodica RIA (radio-immunometric-assay). La concentrazione di insulina libera in ogni campione è stata

misurata con il kit commerciale 125I-IRMA, sviluppato per campioni umani kit (BI-Ins IRMA kit; CIS Bio International Ltd.) e precedentemente validato per campioni di plasma bovino (Kerestes et al., 2009; 2010). Il valore minimo valutabile per il test insulinemico era attestabile sui livelli di 1 μ UI/ml (7 pmol/l).

5.1.6 Test di valutazione per indice di Insulino-Resistenza

Sono stati calcolati, sulla base dei valori di Glucosio e Insulina, gli indici HOMA, QUICKI, RQUICKI LOG, RQUICKI B. Questi indici descrivono il grado di insulino-resistenza dell'animale. Sono indici che non sono stati studiati per la specie bovina, ma che sono stati riportati dalla medicina umana.

L'indice HOMA (Homeostasis Model Assessment) (Matthews et al., 1985) quantifica, in particolare, l'insulino-resistenza e la funzionalità delle cellule β del pancreas:

$$\text{HOMA} = \text{Glucosio (mmol/L)} \times \text{Insulina (\mu U/mL)}.$$

L'indice QUICKI (Quantitative Insulin Sensitivity Check Index) (Katz et al., 2000) misura la sensibilità all'insulina:

$$\text{QUICKI} = 1 / [\log (\text{Glucosio (mg/dL)}) + \log (\text{Insulina (\mu U/mL)})].$$

L'indice RQUICKI LOG (Revised Quantitative Insulin Sensitivity Check Index) (Perseghin et al., 2001), tenendo conto anche dei NEFA, è più preciso del QUICKI nel valutare la sensibilità all'insulina in soggetti normali, cioè non sottoposti a Test da Carico di Glucosio:

$$\text{RQUICKI} = 1 / [\log (\text{Glucosio (mg/dL)}) + \log (\text{Insulina (\mu U/mL)}) + \log (\text{NEFA (mmol/L)})].$$

L'indice RQUICKI B (Revised Quantitative Insulin Sensitivity Check Index including BHB) (Balogh et al., 2008), a differenza dei due precedenti, tiene conto anche del valore di BHB:

$$\text{RQUICKI-BHB} = 1 / [\log (\text{glucose (mg/dl)}) + \log (\text{insulin (\mu U/ml)}) + \log (\text{NEFA (mmol/l)}) + \log (\text{BHB (mmol/l)})].$$

5.1.7 Raccolta dei dati clinici

Ciascun animale incluso nel campione è stato monitorato durante e successivamente al parto al fine di rilevare la presenza (1) o l'assenza (0) di alcune patologie tipiche del periodo di transizione, per le quali si ricercano in questo studio gli indici predittivi pre-

parto: distocia, ritenzione placentare, metrite, mastite, collasso puerperale, zoppia, dislocazione abomasale.

5.1.8 Raccolta dei dati produttivi

I dati produttivi relativi a ciascun animale esaminato sono stati ricavati dai primi quattro controlli funzionali mensili APA dopo il parto. Sono stati presi in considerazione: produzione in 305 giorni (ql), % di proteine nel latte, % di grasso nel latte, rapporto grasso/proteine, numero di cellule somatiche nel latte (SCC – Somatic Cell Count), Logaritmo Naturale del numero di cellule somatiche nel latte.

È stato inoltre raccolto il dato del numero di lattazioni di ogni animale.

5.2 Analisi statistica

La raccolta dati è stata effettuata mediante software Excell. I dati, in seguito, sono stati sottoposti ad analisi statistica mediante l'uso del software SIGMA STAT 3.7.

Per quanto riguarda le variabili continue (dati produttivi, biochimici, BCS) è stata fatta l'analisi della varianza (ANOVA) a due vie, testando l'effetto dell'interazione della classe (divisa nei relativi gruppi) e del periodo (7 giorni prima dal parto, 7 giorni dopo il parto e 14 giorni dopo il parto).

Le variabili discrete (dati clinici) sono state invece testate mediante confronto tra k-proporzioni per l'effetto classe (divisa nei relativi gruppi). Infine sono state calcolate le correlazioni di Pearson tra tutti i parametri presi in considerazione.

I risultati ottenuti dall'analisi statistica sono riportati come $\text{media} \pm \text{SEM}$ (Standard Error of the Mean) nelle seguenti tabelle. Alcuni dei parametri misurati pre-parto, per i quali sono state costruite delle classi, sono risultati avere un effetto significativo sui valori dell'analisi biochimica, sulle prevalenze di alcune patologie e su alcuni parametri produttivi

Sono state definite otto classi di cui testare gli effetti sui parametri clinici, produttivi e metabolici raccolti: “AZIENDA”, “NEFA”, “BHB di campo”, “Glucosio di campo T0”, “Glucosio di campo T80”, “Rapporto Glucosio di campo T80/T0”, “Rapporto Insulina T10/T0”, “BCS”. Tutte le classi sono state costruite sulla base delle valutazioni pre-parto.

All'interno della classe “NEFA” sono stati distinti due gruppi:

“non patologici” $< 0.4 \text{ meq/l} \leq$ “patologici” (Radostis et al., 2007), come all’interno della classe “BHB di campo”: “non patologici” $< 0.6 \text{ mmol/l} \leq$ “patologici” (Radostis et al., 2007).

Per quanto riguarda le classi relative al glucosio, la definizione dei limiti dei gruppi è stata basata sullo studio di Giancesella et al. (2009):

per “Glucosio di campo T0” sono stati creati due gruppi (“non patologici” $\leq 2.5 \text{ mmol/l} <$ “patologici”), come per “Glucosio di campo T80” (“non patologici” $\leq 3.0 \text{ mmol/l} <$ “patologici”).

All’interno della classe “Rapporto Glucosio T80/T0”, sono stati invece formati tre gruppi: “iper-responsivi” < 1.05 ; $1.05 \leq$ “normo-responsivi” < 1.20 ; $C \geq$ “ipo-responsivi”.

Infine, anche per la classe “Rapporto INSULINA T10/T0” e “BCS” sono stati distinti due gruppi, rispettivamente “patologici” $\leq 20 <$ “non patologici”(Insulina T10/T0) e “normali” $< 3.50 \leq$ “eccessivo ingrassamento”(BCS).

6. RISULTATI

6.1 Indici Biochimici

I risultati ottenuti dall'analisi statistica sono riportati come media $\pm$ SEM (Standard Error of the Mean) nelle seguenti tabelle. Per quanto riguarda le classi Azienda, Glucosio di campo T80 e Rapporto Insulina T10/T0, esse non hanno riportato risultati statisticamente significativi.

Nella Tabella 2 sono riportati i risultati della valutazioni del BCS e alle analisi biochimiche dei campioni ematici in base alle classi NEFA e BHB di campo misurati pre-parto.

Per quanto riguarda i NEFA si evidenziano differenze statisticamente significative ($P<0.05$) tra le Classi (NEFA Classe A < 0.4 mEq/l; NEFA Classe B ≥ 0.4 mEq/l) in relazione ai parametri biochimici a - 7 gg dal parto BHB, Gb, ALT e PT. Altre significatività ($P<0.05$) sono presenti a +7gg dal parto per i valori di BHB, Gb, ALT, AST, PT e Urea. Invece per quanto concerne i 14 gg post-partum si notano differenze statisticamente significative per i valori di BHB e Na.

Invece, per il BHB differenze statisticamente significative ($P<0.05$) sono risultate tra le Classi (BHB Classe A < 0.6 mmol/l; BHB Classe B ≥ 0.6 mmol/l) con NEFA in tutti i periodi di studio (-7gg, +7gg, +14gg); con Glucosio basale di campo, Ca e P a +7 giorni dal parto ($P<0.05$); con Cl a -7 giorni dal parto ($P<0.05$).

Da sottolineare la mancanza di correlazioni con i dati relativi al BCS in tutti i periodi e Classi di NEFA e BHB.

Tabella 2. Media $\pm$ SEM di BCS e parametri biochimici in base e al periodo alle classi NEFA (NEFA Classe A < 0.4 mEq/l; NEFA Classe B $\geq$ 0.4 mEq/l) e alle classi BHB (BHB Classe A < 0.6 mmol/l; BHB Classe B $\geq$ 0.6 mmol/l) pre-parto.

	NEFA 7gg pre-parto		NEFA 7gg post-parto		NEFA 14gg post-parto		BHB 7gg pre-parto		BHB 7gg post-parto		BHB 14gg post-parto	
	Classe A	Classe B	Classe A	Classe B	Classe A	Classe B	Classe A	Classe B	Classe A	Classe B	Classe A	Classe B
BCS (scala 0-5)	3.33 $\pm$ 0.04	3.63 $\pm$ 0.04	3.02 $\pm$ 0.04	3.25 $\pm$ 0.04	-	-	3.33 $\pm$ 0.04	3.63 $\pm$ 0.04	3.02 $\pm$ 0.04	3.25 $\pm$ 0.04	-	-
NEFA T0 (meq/l)	-	-	-	-	-	-	0.27 $\pm$ 0.04a	0.50 $\pm$ 0.04b	0.68 $\pm$ 0.04a	0.97 $\pm$ 0.04b	0.59 $\pm$ 0.05a	0.75 $\pm$ 0.05b
BHB di campo T0 (mmol/l)	0.49 $\pm$ 0.09	0.65 $\pm$ 0.09	0.76 $\pm$ 0.10	1.36 $\pm$ 0.09	0.81 $\pm$ 0.13	1.18 $\pm$ 0.10	-	-	-	-	-	-
BHB di lab. T0 (mmol/l)	0.49 $\pm$ 0.10a	0.66 $\pm$ 0.09b	0.76 $\pm$ 0.10a	1.40 $\pm$ 0.09b	0.81 $\pm$ 0.13a	1.18 $\pm$ 0.10b	-	-	-	-	-	-
INS T0 (pmol/l)	27.97 $\pm$ 2.77	19.64 $\pm$ 2.67	19.33 $\pm$ 2.79	16.55 $\pm$ 2.67	19.64 $\pm$ 3.89	19.19 $\pm$ 2.90	24.81 $\pm$ 2.71	22.45 $\pm$ 2.77	18.99 $\pm$ 2.69	16.66 $\pm$ 2.81	16.81 $\pm$ 3.26	21.76 $\pm$ 3.44
GLU campo T0 (mmol/l)	2.78 $\pm$ 0.07	2.71 $\pm$ 0.07	2.47 $\pm$ 0.07	2.36 $\pm$ 0.07	2.36 $\pm$ 0.10	2.50 $\pm$ 0.07	2.88 $\pm$ 0.06	2.74 $\pm$ 0.06	2.54 $\pm$ 0.06a	2.32 $\pm$ 0.06b	2.50 $\pm$ 0.08	2.40 $\pm$ 0.09
GLU lab. T0 (mmol/l)	3.34 $\pm$ 0.10	3.27 $\pm$ 0.10	3.12 $\pm$ 0.10	2.91 $\pm$ 0.10	2.78 $\pm$ 0.14	2.85 $\pm$ 0.11	3.32 $\pm$ 0.08	3.17 $\pm$ 0.09	3.00 $\pm$ 0.08	2.81 $\pm$ 0.09	2.86 $\pm$ 0.12	2.78 $\pm$ 0.12
PT (g/dl)	44.62 $\pm$ 3.32a	67.73 $\pm$ 3.20b	44.55 $\pm$ 3.34a	70.17 $\pm$ 3.18b	80.38 $\pm$ 4.66	81.46 $\pm$ 3.48	47.05 $\pm$ 3.42	43.92 $\pm$ 3.44	48.49 $\pm$ 3.42	45.08 $\pm$ 3.46	80.76 $\pm$ 4.63	81.52 $\pm$ 4.89
ALB (g/dl)	3.36 $\pm$ 0.04	3.45 $\pm$ 0.04	3.36 $\pm$ 0.04	3.32 $\pm$ 0.04	3.30 $\pm$ 0.06	3.24 $\pm$ 0.04	3.38 $\pm$ 0.04	3.42 $\pm$ 0.04	3.33 $\pm$ 0.04	3.28 $\pm$ 0.04	3.29 $\pm$ 0.05	3.23 $\pm$ 0.05
GL (g/dl)	24.95 $\pm$ 1.96a	37.46 $\pm$ 1.89b	25.47 $\pm$ 1.97a	41.08 $\pm$ 1.88b	47.33 $\pm$ 2.75	49.03 $\pm$ 2.05	26.10 $\pm$ 2.00	24.28 $\pm$ 2.01	28.06 $\pm$ 2.00	26.12 $\pm$ 2.02	47.91 $\pm$ 2.71	49.23 $\pm$ 2.86
Ca (mg/dl)	9.64 $\pm$ 0.11	9.79 $\pm$ 0.10	9.37 $\pm$ 0.11	9.53 $\pm$ 0.10	9.62 $\pm$ 0.15	9.66 $\pm$ 0.11	9.63 $\pm$ 0.10	9.64 $\pm$ 0.10	9.52 $\pm$ 0.10a	9.16 $\pm$ 0.10b	9.69 $\pm$ 0.13	9.59 $\pm$ 0.14
Cl (mmol/l)	105.42 $\pm$ 0.57	105.38 $\pm$ 0.55	101.00 $\pm$ 0.57	100.66 $\pm$ 0.55	100.95 $\pm$ 0.80	100.62 $\pm$ 0.60	103.56 $\pm$ 0.50a	105.28 $\pm$ 0.50b	100.23 $\pm$ 0.50	100.15 $\pm$ 0.51	100.65 $\pm$ 0.68	100.70 $\pm$ 0.71
P (mg/dl)	6.49 $\pm$ 0.19	6.69 $\pm$ 0.18	6.07 $\pm$ 0.19	5.96 $\pm$ 0.18	6.19 $\pm$ 0.26	5.80 $\pm$ 0.20	6.54 $\pm$ 0.16	6.28 $\pm$ 0.16	6.00 $\pm$ 0.16a	5.55 $\pm$ 0.16b	5.84 $\pm$ 0.21	6.02 $\pm$ 0.23
AST (u/l)	87.67 $\pm$ 6.70	78.31 $\pm$ 6.47	126.67 $\pm$ 6.75a	149.07 $\pm$ 6.42b	126.10 $\pm$ 9.41	140.38 $\pm$ 7.03	78.14 $\pm$ 5.55	76.22 $\pm$ 5.58	127.13 $\pm$ 5.55	131.49 $\pm$ 5.62	127.15 $\pm$ 7.53	147.78 $\pm$ 7.94
ALT (u/l)	17.56 $\pm$ 0.76a	11.19 $\pm$ 0.73b	15.57 $\pm$ 0.77a	11.69 $\pm$ 0.73b	13.68 $\pm$ 1.07	11.48 $\pm$ 0.80	15.66 $\pm$ 0.68	14.23 $\pm$ 0.69	14.37 $\pm$ 0.68	13.80 $\pm$ 0.69	12.68 $\pm$ 0.92	12.06 $\pm$ 0.97
Mg (mg/dl)	2.62 $\pm$ 0.06	2.40 $\pm$ 0.06	2.40 $\pm$ 0.06	2.17 $\pm$ 0.06	3.40 $\pm$ 0.08	2.43 $\pm$ 0.06	2.49 $\pm$ 0.05	2.41 $\pm$ 0.05	2.23 $\pm$ 0.05	2.24 $\pm$ 0.05	2.41 $\pm$ 0.07	2.41 $\pm$ 0.07
K (mmol/dl)	3.63 $\pm$ 0.07	3.66 $\pm$ 0.06	3.40 $\pm$ 0.07	3.31 $\pm$ 0.06	3.49 $\pm$ 0.09	3.18 $\pm$ 0.07	4.01 $\pm$ 0.09	4.05 $\pm$ 0.09	3.75 $\pm$ 0.09	3.58 $\pm$ 0.09	3.31 $\pm$ 0.12	3.27 $\pm$ 0.13
Na (mmol/l)	142.34 $\pm$ 0.43	141.89 $\pm$ 0.42	142.20 $\pm$ 0.43	141.38 $\pm$ 0.41	139.64 $\pm$ 0.61a	141.34 $\pm$ 0.45b	140.27 $\pm$ 0.56	139.98 $\pm$ 0.56	140.00 $\pm$ 0.56	139.08 $\pm$ 0.57	140.89 $\pm$ 0.76	140.53 $\pm$ 0.80
UREA (mg/dl)	31.50 $\pm$ 1.50	27.75 $\pm$ 1.44	25.23 $\pm$ 1.51a	29.63 $\pm$ 1.43b	28.10 $\pm$ 2.10	28.63 $\pm$ 1.57	29.42 $\pm$ 1.25	28.06 $\pm$ 1.26	25.92 $\pm$ 1.25	27.19 $\pm$ 1.27	27.96 $\pm$ 1.70	28.90 $\pm$ 1.79

a.b. Lettere diverse sulla stessa riga entro lo stesso periodo indicano differenze statisticamente significative ($P < 0.05$) tra le classi.

Nella tabella 3 si notano le differenze statisticamente significative tra le classi di NEFA e BHB in relazione agli indici di Insulino Resistenza.

Per quanto riguarda i NEFA si evidenziano differenze statisticamente significative ($P < 0.05$) tra le Classi (NEFA Classe A < 0.4 mEq/l; NEFA Classe B ≥ 0.4 mEq/l) e RQUICKI LOG e RQUICKI nel periodo del pre-parto; mentre una differenza statisticamente significativa ($P < 0.05$) si ha con RQUICKI BHB a +7 gg dal parto .

Invece, per il BHB risultano differenze statisticamente significative ($P < 0.05$) tra le Classi (BHB Classe A < 0.6 mmol/l; BHB Classe B ≥ 0.6 mmol/l) ed RQUICKI BHB nel pre-partum.

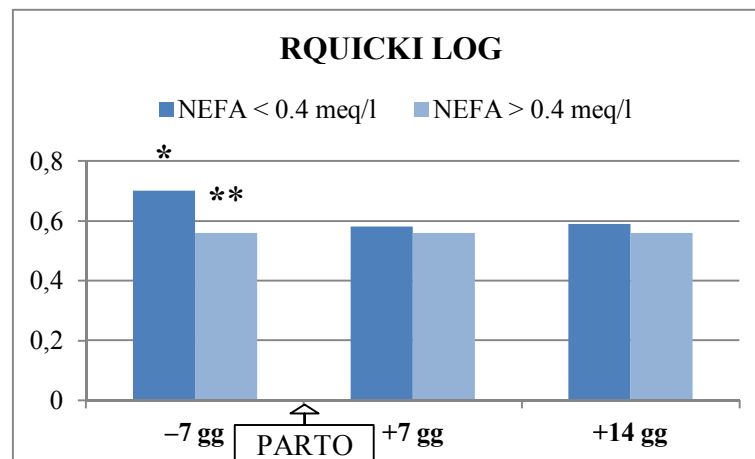
Tabella 3. Media $\pm$ SEM degli indici di Insulino Resistenza in base al periodo e alle classi NEFA (NEFA Classe A < 0.4 mEq/l; NEFA Classe B $\geq$ 0.4 mEq/l) e BHB (BHB Classe A < 0.6 mmol/l; BHB Classe B $\geq$ 0.6 mmol/l) pre-parto.

	NEFA 7 gg pre-parto		NEFA 7 gg post-parto		NEFA 7 gg post-parto		BHB 7 gg pre-parto		BHB 7 gg post-parto		BHB 7gg post-parto	
	Classe A	Classe B	Classe A	Classe B	Classe A	Classe B	Classe A	Classe B	Classe A	Classe B	Classe A	Classe B
HOMA INDEX	0.60 $\pm$ 0.06	0.42 $\pm$ 0.06	0.44 $\pm$ 0.06	0.32 $\pm$ 0.06	0.34 $\pm$ 0.09	0.39 $\pm$ 0.07	0.53 $\pm$ 0.06	0.48 $\pm$ 0.06	0.43 $\pm$ 0.06	0.32 $\pm$ 0.07	0.32 $\pm$ 0.08	0.42 $\pm$ 0.08
QUICKI	0.44 $\pm$ 0.01	0.48 $\pm$ 0.01	0.50 $\pm$ 0.01	0.54 $\pm$ 0.01	0.50 $\pm$ 0.01	0.50 $\pm$ 0.01	0.45 $\pm$ 0.01	0.47 $\pm$ 0.01	0.51 $\pm$ 0.01	0.54 $\pm$ 0.01	0.50 $\pm$ 0.01	0.50 $\pm$ 0.01
RQUICKI LOG	0.70$\pm$0.02a	0.56$\pm$0.02b	0.58 $\pm$ 0.02	0.56 $\pm$ 0.02	0.59 $\pm$ 0.02	0.56 $\pm$ 0.02	0.66 $\pm$ 0.02	0.60 $\pm$ 0.02	0.57 $\pm$ 0.01	0.57 $\pm$ 0.02	0.55 $\pm$ 0.02	0.59 $\pm$ 0.02
RQUICKI BHB	0.98$\pm$0.03a	0.65$\pm$0.03b	0.66$\pm$0.03a	0.57$\pm$0.03b	0.66 $\pm$ 0.04	0.61 $\pm$ 0.03	0.95$\pm$0.06a	0.67$\pm$0.02b	0.64 $\pm$ 0.02	0.59 $\pm$ 0.02	0.57 $\pm$ 0.02	0.68 $\pm$ 0.03

a. b. Lettere diverse sulla stessa riga entro lo stesso periodo indicano differenze statisticamente significative (P < 0.05) tra le classi.

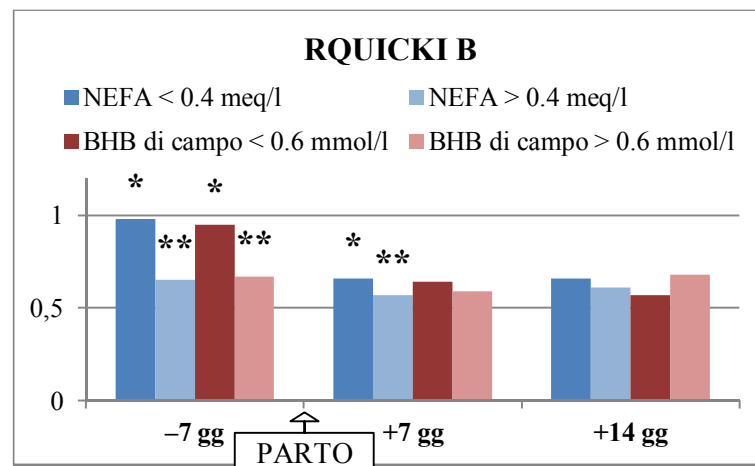
Grafico 2 e 3 mostrano gli effetti e le relative significatività tra periodo e Classi NEFA in relazione a RQUICKI LOG; e tra periodo e Classi NEFA e BHB di Campo rispetto a RQUICKI B ($P < 0.05$).

Grafico 2. Effetto delle classi NEFA e del periodo sull'indice di Insulino Resistenza RQUICKI LOG



*, ** Asterischi diversi entro lo stesso periodo indicano differenze statisticamente significative ($P < 0.05$) tra le classi.

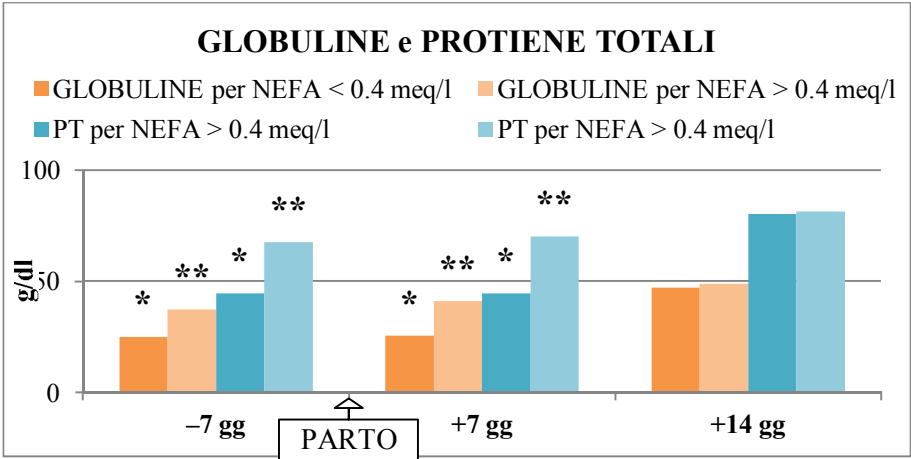
Grafico 3. Effetto delle classi NEFA, BHB di campo e del periodo sul parametro RQUICKI B



*, ** Asterischi diversi entro lo stesso periodo indicano differenze statisticamente significative ($P < 0.05$) tra le classi.

Grafico 4 mostra le significatività ($P < 0.05$) entro periodi delle Gb e PT in base alle Classi NEFA.

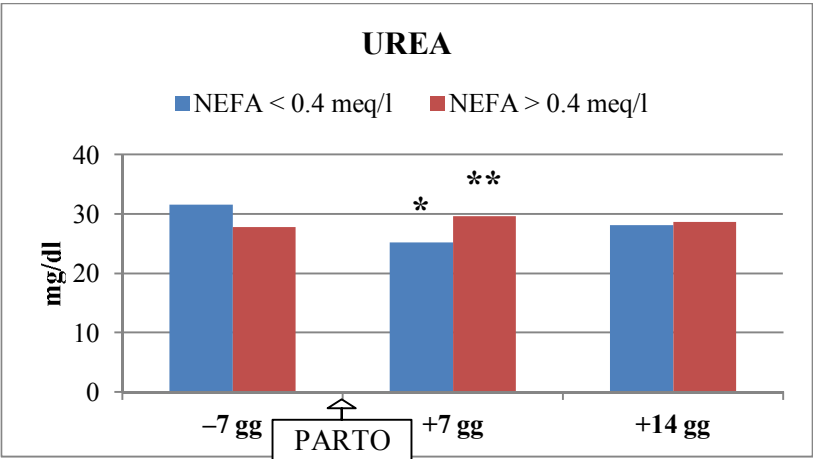
Grafico 4. Effetto delle classi NEFA entro periodi sulle Gb e PT.



*,** Asterischi diversi entro lo stesso periodo indicano differenze statisticamente significative ($P < 0.05$) tra le classi

Grafico 5 mostra le significatività ($P < 0.05$) entro periodi tra le Classi NEFA rispetto all'Urea.

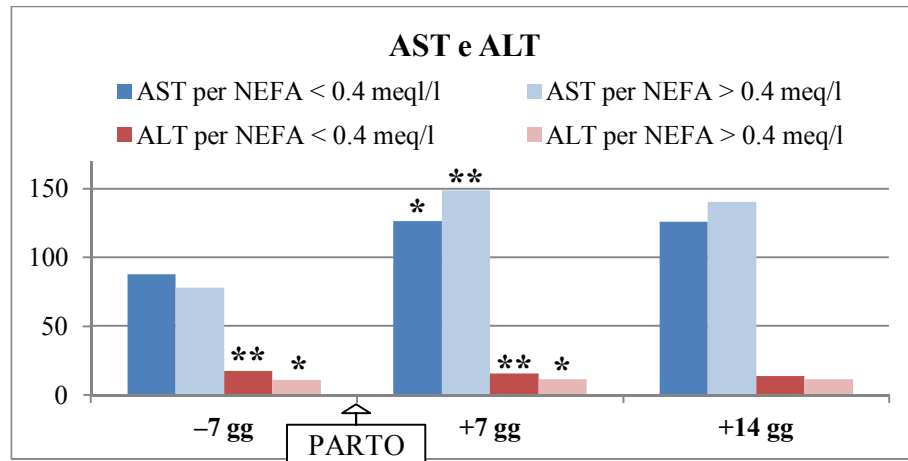
Grafico 5. Effetto delle classi NEFA entro periodi sull' UREA



*,** Asterischi diversi entro lo stesso periodo indicano differenze statisticamente significative ($P < 0.05$) tra le classi

Grafico 6 mostra le significatività ($P < 0.05$) entro periodi tra le Classi NEFA relativamente a AST e ALT.

Grafico 6. Effetto delle classi NEFA entro periodi sugli enzimi epatici AST e ALT



*, ** Asterischi diversi entro lo stesso periodo indicano differenze statisticamente significative ($P < 0.05$) tra le classi

Nella tabella 4 sono riportati i risultati della valutazioni del BCS e le analisi biochimiche dei campioni ematici in base alle classi Glucosio di campo T0.

Per quanto riguarda il Glucosio, sono presenti differenze statisticamente significative ($P < 0.05$) in base alle Classi di appartenenza (GLU di campo T0 Classe A < 2.5 mmol GLU di campo T0 Classe B $\geq$ 2.5 mmol/l) con RQUICKI LOG nei due periodi post partum. Inoltre sono presenti delle differenze statisticamente significative ($P < 0.05$) con Gb, ALT e PT nel pre parto; mentre a +7gg post-partum con PT; e a +14gg post-partum con ALT.

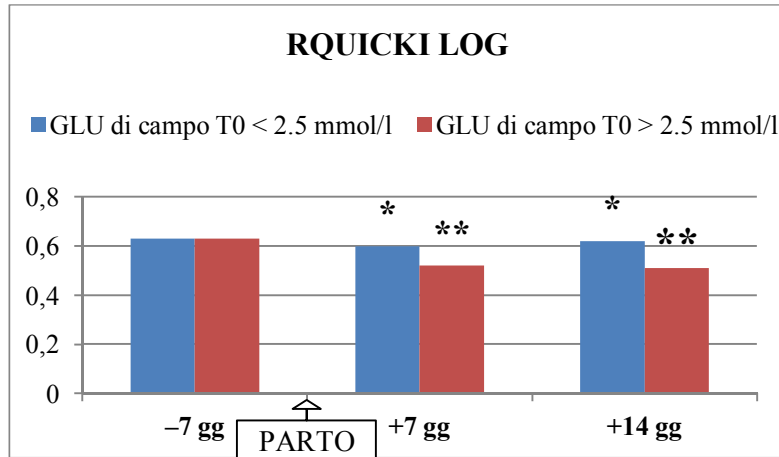
Tabella 4. Media $\pm$ SEM di BCS e parametri biochimici in base alla classe Glucosio di campo T0 pre-parto e al periodo.

<u>GLU di campo T0 pre-parto</u>	7 gg PRE-PARTO		7 gg POST-PARTO		14 gg POST-PARTO	
	≤ 2.5 mmol/l	> 2.5 mmol/l	≤ 2.5 mmol/l	> 2.5 mmol/l	≤ 2.5 mmol/l	> 2.5 mmol/l
BCS	3.55$\pm$0.05a	3.41$\pm$0.03b	3.05 $\pm$ 0.03	3.09 $\pm$ 0.04	-	-
BHB di campo T0 (mmol/l)	0.74 $\pm$ 0.11	0.52 $\pm$ 0.08	1.35 $\pm$ 0.08	0.83 $\pm$ 0.10	1.33 $\pm$ 0.12	0.77 $\pm$ 0.13
BHB di lab. T0 (mmol/l)	0.67 $\pm$ 0.11	0.53 $\pm$ 0.08	1.27 $\pm$ 0.08	0.77 $\pm$ 0.11	1.33 $\pm$ 0.11	0.77 $\pm$ 0.12
NEFA T0 (meq/l)	0.49 $\pm$ 0.05	0.33 $\pm$ 0.04	0.82 $\pm$ 0.04	0.84 $\pm$ 0.05	0.65 $\pm$ 0.05	0.68 $\pm$ 0.06
INSULINA T0 (pmol/l)	19.56 $\pm$ 3.27	25.82 $\pm$ 2.38	16.39 $\pm$ 2.39	20.66 $\pm$ 3.27	15.44 $\pm$ 3.24	23.28 $\pm$ 3.42
HOMA INDEX	0.39 $\pm$ 0.07	0.56 $\pm$ 0.05	0.28 $\pm$ 0.05	0.55 $\pm$ 0.07	0.25 $\pm$ 0.07	0.50 $\pm$ 0.08
QUICKI	0.49 $\pm$ 0.01	0.45 $\pm$ 0.01	0.54 $\pm$ 0.01	0.48 $\pm$ 0.01	0.54 $\pm$ 0.01	0.46 $\pm$ 0.01
RQUICKI LOG	0.63 $\pm$ 0.02	0.63 $\pm$ 0.01	0.60$\pm$0.01a	0.52$\pm$0.02b	0.62$\pm$0.02a	0.51$\pm$0.02b
RQUICKI B	0.77 $\pm$ 0.04	0.83 $\pm$ 0.03	0.64 $\pm$ 0.03	0.57 $\pm$ 0.04	0.66 $\pm$ 0.04	0.59 $\pm$ 0.04
ALBUMINE (gr/dl)	3.50 $\pm$ 0.05	3.36 $\pm$ 0.03	3.36 $\pm$ 0.03	3.22 $\pm$ 0.04	3.34 $\pm$ 0.05	3.16 $\pm$ 0.05
CALCIO (mg/dl)	9.77 $\pm$ 0.12	9.58 $\pm$ 0.08	9.44 $\pm$ 0.09	9.20 $\pm$ 0.11	9.66 $\pm$ 0.13	9.63 $\pm$ 0.14
CLORO (mmol/l)	105.21 $\pm$ 0.64	104.07 $\pm$ 0.42	100.68 $\pm$ 0.45	99.35 $\pm$ 0.57	101.18 $\pm$ 0.68	100.10 $\pm$ 0.71
FOSFORO (mg/dl)	6.90 $\pm$ 0.20	6.20 $\pm$ 0.13	5.83 $\pm$ 0.14	5.66 $\pm$ 0.18	6.01 $\pm$ 0.21	5.83 $\pm$ 0.23
GLOBULINE (gr/dl)	33.18$\pm$2.53a	21.75$\pm$1.66b	28.68 $\pm$ 1.77	24.18 $\pm$ 2.26	46.60 $\pm$ 2.66	50.70 $\pm$ 2.81
AST (u/l)	79.10 $\pm$ 7.17	76.36 $\pm$ 4.71	134.17 $\pm$ 5.00	120.83 $\pm$ 6.39	138.48 $\pm$ 7.53	135.17 $\pm$ 7.95
ALT (u/l)	13.04$\pm$0.87a	15.78$\pm$0.57b	14.30 $\pm$ 0.61	13.71 $\pm$ 0.78	13.67$\pm$0.91a	10.97$\pm$0.96b
Mg (mg/dl)	2.28 $\pm$ 0.07	2.52 $\pm$ 0.04	2.20 $\pm$ 0.05	2.28 $\pm$ 0.06	2.33 $\pm$ 0.07	2.51 $\pm$ 0.07
K (mmol/dl)	3.98 $\pm$ 0.12	4.05 $\pm$ 0.08	3.61 $\pm$ 0.08	3.81 $\pm$ 0.10	3.36 $\pm$ 0.12	3.21 $\pm$ 0.13
PT (g/dl)	60.87$\pm$4.31a	38.85$\pm$2.83b	50.43$\pm$3.01a	40.32$\pm$3.84b	80.04 $\pm$ 4.53	82.33 $\pm$ 4.78
Na (mmol/l)	141.87 $\pm$ 0.71	139.37 $\pm$ 0.47	140.18 $\pm$ 0.50	138.42 $\pm$ 0.63	141.30 $\pm$ 0.75	140.07 $\pm$ 0.79
UREA (mg/dl)	30.81 $\pm$ 1.61	27.85 $\pm$ 1.06	26.17 $\pm$ 1.12	27.15 $\pm$ 1.44	27.00 $\pm$ 1.69	29.97 $\pm$ 1.79

a.b. Lettere diverse sulla stessa riga entro lo stesso periodo indicano differenze statisticamente significative (P < 0.05) tra le classi.

Grafico 7 mostra le significatività ($P < 0.05$) entro periodi tra le Classi Glucosio di Campo T0 rispetto all'indice RQUICKI LOG.

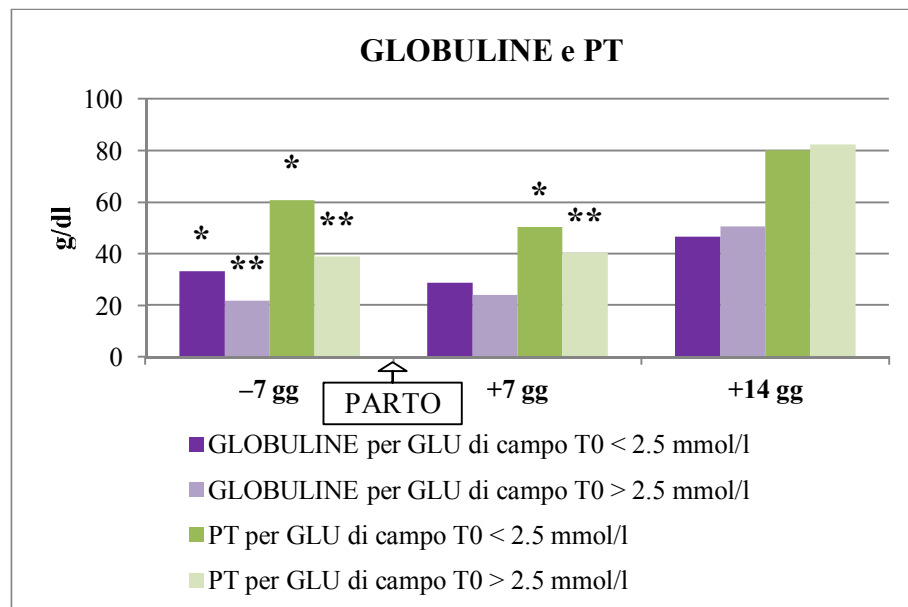
Grafico 7. Effetto delle classi di Glucosio di Campo T0 entro periodi sull' RQUICKI LOG



*,** Asterischi diversi entro lo stesso periodo indicano differenze statisticamente significative ($P < 0.05$) tra le classi

Grafico 8 mostra le significatività ($P < 0.05$) entro periodi delle Gb e PT in base alle Classi Glucosio di campo T0.

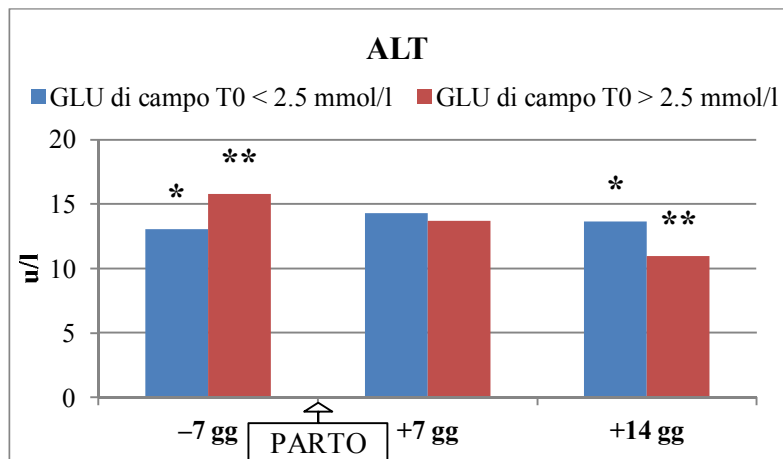
Grafico 8. Effetto delle classi del Glucosio di campo T0 entro periodi sulle Gb e PT.



*,** Asterischi diversi entro lo stesso periodo indicano differenze statisticamente significative ($P < 0.05$) tra le classi

Grafico 9 mostra le significatività ($P < 0.05$) entro periodi tra Classi di Glucosio di campo T0 in relazione alla ALT.

Grafico 9. Effetto delle classi del Glucosio di campo T0 entro periodi sull'enzima epatico ALT



*,** Asterischi diversi entro lo stesso periodo indicano differenze statisticamente significative ($P < 0.05$) tra le classi

Nella tabella 5 sono riportati i risultati delle analisi biochimiche dei campioni ematici in base alle classi Rapporto Glucosio T80/T0 pre-parto e alle valutazioni del BCS.

Per quanto riguarda il Rapporto Glucosio T80/T0 presenta differenze statisticamente significative ($P < 0.05$) in base alle Classi di appartenenza (GLU di campo T80/T0 Classe A < 1.05 ; $1.05 \leq$ GLU di campo T80/T0 Classe B < 1.20 ; GLU di campo T80/T0 Classe C ≥ 1.20) con BHB di laboratorio e BHB di campo a 7 gg nel postpartum.

Il BCS presenta differenze statisticamente significative ($P < 0.05$) in base alle Classi di appartenenza (BCS Classe A < 3.5 ; BCS Classe B ≥ 3.5) con NEFA a 7 giorni pre-parto e BHB di laboratorio e Na a 7 gg nel postpartum.

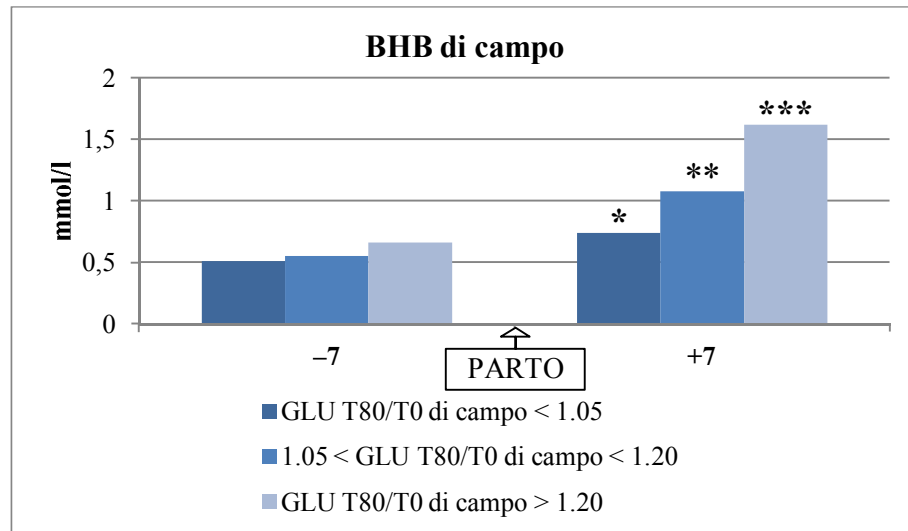
Tabella 5. Media $\pm$ SEM di BCS e parametri biochimici in base e al periodo alle classi Rapporto Glucosio di campo T80/T0 (GLU di campo T80/T0 Classe A < 1.05; 1.05 $\leq$ GLU di campo T80/T0 Classe B < 1.20; GLU di campo T80/T0 Classe C $\geq$ 1.20) e alle classi BCS (BCS Classe A < 3.5; BCS Classe B $\geq$ 3.5) pre-parto.

	GLU T80/T0 7 gg PRE-PARTO			GLU T80/T0 7 gg POST-PARTO			BCS 7 gg PRE-PARTO		BCS 7 gg POST-PARTO	
	Classe A	Classe B	Classe C	Classe A	Classe B	Classe C	Classe A	Classe B	Classe A	Classe B
BCS	3.38 $\pm$ 0.05	3.45 $\pm$ 0.06	3.52 $\pm$ 0.04	3.03 $\pm$ 0.05	3.03 $\pm$ 0.05	3.10 $\pm$ 0.05	-	-	-	-
GLU di campo T0 (mmol/l)	-	-	-	-	-	-	2.80 $\pm$ 0.07	2.82 $\pm$ 0.06	2.48 $\pm$ 0.07	2.40 $\pm$ 0.6
GLU di lab. T0 (mmol/l)	-	-	-	-	-	-	3.28 $\pm$ 0.10	3.23 $\pm$ 0.08	2.95 $\pm$ 0.10	2.87 $\pm$ 0.08
BHB di campo T0 (mmol/l)	0.51 $\pm$ 0.10	0.55 $\pm$ 0.13	0.66 $\pm$ 0.09	0.74$\pm$0.10a	1.08$\pm$0.11b	1.62$\pm$0.10c	0.56 $\pm$ 0.04	0.61 $\pm$ 0.04	1.00 $\pm$ 0.13	1.25 $\pm$ 0.11
BHB di lab. T0 (mmol/l)	0.51 $\pm$ 0.10	0.57 $\pm$ 0.13	0.63 $\pm$ 0.09	0.75$\pm$0.10a	0.92$\pm$0.11a	1.56$\pm$0.10b	0.52 $\pm$ 0.11	0.61 $\pm$ 0.09	0.92$\pm$0.11a	1.22$\pm$0.09b
NEFA T0 (meq/l)	0.30 $\pm$ 0.06	0.33 $\pm$ 0.07	0.46 $\pm$ 0.05	0.69 $\pm$ 0.05	0.90 $\pm$ 0.06	0.89 $\pm$ 0.05	0.31$\pm$0.05a	0.43$\pm$0.04b	0.75 $\pm$ 0.05	0.87 $\pm$ 0.04
INSULINA T0 (pmol/l)	24.52 $\pm$ 3.62	26.71 $\pm$ 4.44	21.62 $\pm$ 3.04	18.15 $\pm$ 3.51	21.33 $\pm$ 3.94	15.09 $\pm$ 3.40	22.92 $\pm$ 3.02	24.17 $\pm$ 2.51	21.20 $\pm$ 3.02	15.54 $\pm$ 2.53
HOMA INDEX	0.52 $\pm$ 0.09	0.57 $\pm$ 0.10	0.46 $\pm$ 0.07	0.41 $\pm$ 0.08	0.38 $\pm$ 0.09	0.34 $\pm$ 0.08	0.48 $\pm$ 0.07	0.52 $\pm$ 0.06	0.46 $\pm$ 0.07	0.32 $\pm$ 0.06
QUICKI	0.45 $\pm$ 0.01	0.45 $\pm$ 0.01	0.47 $\pm$ 0.01	0.50 $\pm$ 0.01	0.53 $\pm$ 0.01	0.54 $\pm$ 0.01	0.46 $\pm$ 0.01	0.46 $\pm$ 0.01	0.52 $\pm$ 0.01	0.53 $\pm$ 0.01
RQUICKI LOG	0.65 $\pm$ 0.02	0.62 $\pm$ 0.03	0.61 $\pm$ 0.02	0.56 $\pm$ 0.02	0.57 $\pm$ 0.02	0.59 $\pm$ 0.02	0.67 $\pm$ 0.02	0.60 $\pm$ 0.02	0.59 $\pm$ 0.02	0.56 $\pm$ 0.01
RQUICKI B	0.86 $\pm$ 0.05	0.80 $\pm$ 0.06	0.78 $\pm$ 0.04	0.64 $\pm$ 0.05	0.62 $\pm$ 0.05	0.58 $\pm$ 0.04	0.88 $\pm$ 0.06	0.76 $\pm$ 0.04	0.65 $\pm$ 0.03	0.58 $\pm$ 0.02
ALBUMINE (gr/dl)	3.35 $\pm$ 0.04	3.39 $\pm$ 0.06	3.44 $\pm$ 0.04	3.32 $\pm$ 0.04	3.36 $\pm$ 0.05	3.25 $\pm$ 0.04	3.36 $\pm$ 0.04	3.43 $\pm$ 0.03	3.27 $\pm$ 0.04	3.33 $\pm$ 0.03
CALCIO (mg/dl)	9.61 $\pm$ 0.12	9.74 $\pm$ 0.15	9.62 $\pm$ 0.10	9.22 $\pm$ 0.12	9.54 $\pm$ 0.13	9.32 $\pm$ 0.12	9.66 $\pm$ 0.11	9.62 $\pm$ 0.09	9.37 $\pm$ 0.11	9.33 $\pm$ 0.09
CLORO (mmol/l)	103.51 $\pm$ 0.67	105.36 $\pm$ 0.84	104.74 $\pm$ 0.56	100.37 $\pm$ 0.64	100.13 $\pm$ 0.73	100.05 $\pm$ 0.63	104.87 $\pm$ 0.58	104.14 $\pm$ 0.45	100.15 $\pm$ 0.58	100.21 $\pm$ 0.45
FOSFORO (mg/dl)	6.33 $\pm$ 0.20	6.56 $\pm$ 0.25	6.39 $\pm$ 0.16	5.68 $\pm$ 0.19	5.66 $\pm$ 0.21	5.94 $\pm$ 0.18	6.60 $\pm$ 0.18	6.29 $\pm$ 0.14	5.98 $\pm$ 0.18	5.66 $\pm$ 0.14
GLOBULINE (gr/dl)	21.10 $\pm$ 2.73	26.09 $\pm$ 3.42	27.93 $\pm$ 2.28	23.34 $\pm$ 2.62	25.34 $\pm$ 2.97	31.29 $\pm$ 2.56	25.29 $\pm$ 2.30	25.14 $\pm$ 1.80	27.24 $\pm$ 2.32	27.01 $\pm$ 1.80
AST (u/l)	77.35 $\pm$ 6.14	76.42 $\pm$ 7.69	77.59 $\pm$ 5.13	119.29 $\pm$ 5.89	129.31 $\pm$ 6.68	139.15 $\pm$ 5.76	78.55 $\pm$ 6.38	76.35 $\pm$ 4.99	126.00 $\pm$ 6.43	131.26 $\pm$ 4.99
ALT (u/l)	16.40 $\pm$ 0.85	13.64 $\pm$ 1.07	14.43 $\pm$ 0.71	13.70 $\pm$ 0.82	14.95 $\pm$ 0.93	13.86 $\pm$ 0.80	16.13 $\pm$ 0.78	14.23 $\pm$ 0.61	14.51 $\pm$ 0.79	13.84 $\pm$ 0.61
Mg (mg/dl)	2.40 $\pm$ 0.06	2.55 $\pm$ 0.08	2.43 $\pm$ 0.05	2.28 $\pm$ 0.06	2.34 $\pm$ 0.07	2.10 $\pm$ 0.06	2.43 $\pm$ 0.06	2.46 $\pm$ 0.05	2.22 $\pm$ 0.06	2.24 $\pm$ 0.05
K (mmol/l)	3.98 $\pm$ 0.12	3.93 $\pm$ 0.15	4.09 $\pm$ 0.10	3.70 $\pm$ 0.12	3.78 $\pm$ 0.13	3.59 $\pm$ 0.11	3.96 $\pm$ 0.10	4.08 $\pm$ 0.08	3.67 $\pm$ 0.10	3.66 $\pm$ 0.08
PT (g/dl)	38.30 $\pm$ 4.71	46.50 $\pm$ 5.90	50.54 $\pm$ 3.94	40.27 $\pm$ 4.52	44.24 $\pm$ 5.12	53.75 $\pm$ 4.41	44.70 $\pm$ 3.94	45.98 $\pm$ 3.08	46.15 $\pm$ 3.96	47.20 $\pm$ 3.08
Na (mmol/l)	139.80 $\pm$ 0.73	139.99 $\pm$ 0.92	140.53 $\pm$ 0.61	139.30 $\pm$ 0.70	139.87 $\pm$ 0.80	139.44 $\pm$ 0.69	141.00 $\pm$ 0.64	139.59 $\pm$ 0.50	140.75$\pm$0.64a	138.82$\pm$0.50b
UREA (mg/dl)	28.10 $\pm$ 1.50	28.28 $\pm$ 1.88	29.42 $\pm$ 1.26	24.26 $\pm$ 1.44	25.86 $\pm$ 1.63	29.20 $\pm$ 1.41	29.75 $\pm$ 1.44	28.12 $\pm$ 1.13	26.20 $\pm$ 1.45	26.76 $\pm$ 1.13

a b. Lettere diverse sulla stessa riga entro lo stesso periodo indicano differenze statisticamente significative (P < 0.05) tra le classi.

Grafico 10 mostra le significatività ($P < 0.05$) entro periodi tra BHB di campo e le Classi Rapporto Glucosio T80/T0.

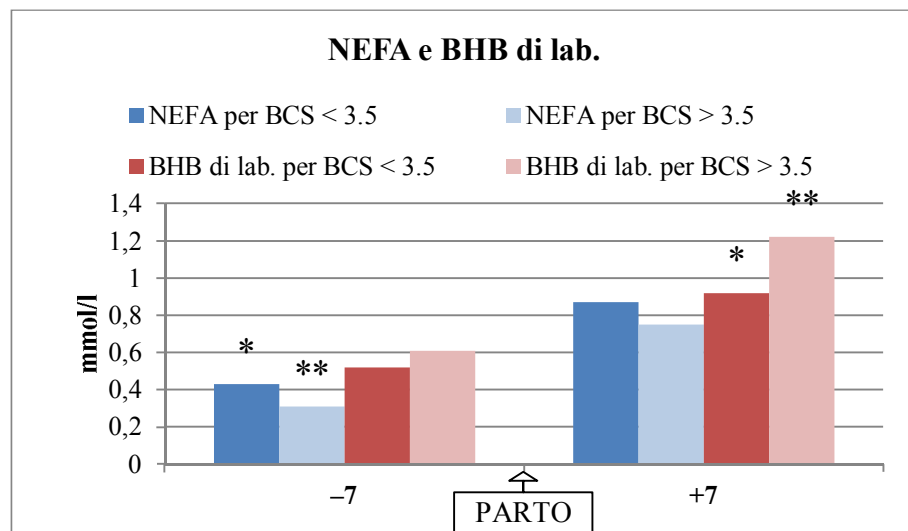
Grafico 10. Effetto delle classi di Rapporto Glucosio T80/T0 entro periodi sul parametro BHB di campo.



*,** Asterischi diversi entro lo stesso periodo indicano differenze statisticamente significative ($P < 0.05$) tra le classi

Grafico 11 mostra le significatività ($P < 0.05$) entro periodi tra le Classi BCS in relazione a NEFA e BHB di laboratorio.

Grafico 11. Effetto delle classi di BCS entro periodi sui parametri NEFA e BHB di laboratorio.



*,** Asterischi diversi entro lo stesso periodo indicano differenze statisticamente significative ($P < 0.05$) tra le classi

6.2 Parametri Clinici e Produttivi

Nella Tabella 6 sono riportati i risultati relativi all'effetto delle classi NEFA, BHB di campo, Glucosio di campo T0 e Rapporto Glucosio di campo T80/T0 sui parametri clinici. Le differenze statisticamente significative sono evidenziate in grassetto all'interno della tabella, e sono rappresentate anche nel grafico 12. Per quanto riguarda le classi Azienda, Glucosio di campo T80, Rapporto Insulina T10/T0 e BCS non è risultato alcun effetto statisticamente significativo, e sono state quindi omesse dalla tabella.

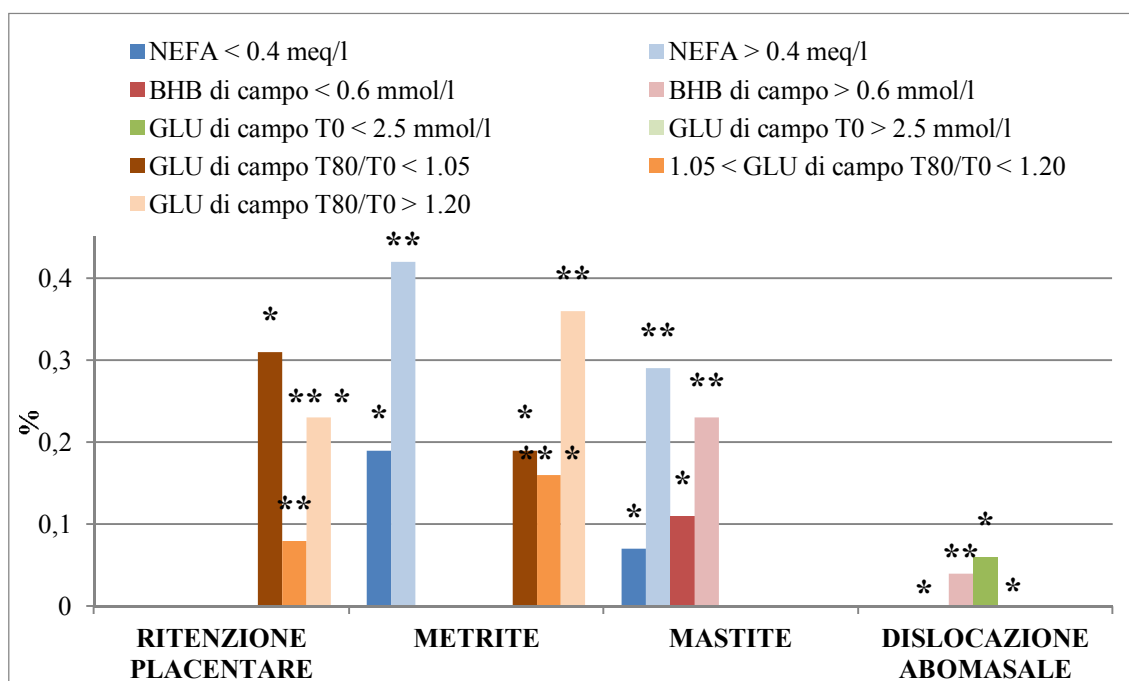
Tabella 6. Media $\pm$ SEM della prevalenza in percentuale di patologie post-parto in base alle classi NEFA, BHB, Glucosio di campo T0 e Glucosio di campo T80/T0 pre-parto.

Parametri pre-parto	Classi	Rit.Placenta (%)	Metrite (%)	Distocia (%)	Mastite (%)	Collasso P. (%)	Zoppia (%)	Dislocaz. Ab. (%)
NEFA (meq/l)	A < 0.4	16 $\pm$ 5	19 $\pm$ 5a	10 $\pm$ 4	7$\pm$3a	3 $\pm$ 2	3 $\pm$ 2	0 $\pm$ 0
	B > 0.4	26 $\pm$ 5	42 $\pm$ 6b	7 $\pm$ 3	29$\pm$5b	4 $\pm$ 2	10 $\pm$ 4	4 $\pm$ 2
BHB di campo (mmol/l)	A < 0.6	20 $\pm$ 4	23 $\pm$ 4	7 $\pm$ 3	11$\pm$3a	3 $\pm$ 2	7 $\pm$ 3	0$\pm$0a
	B > 0.6	25 $\pm$ 5	29 $\pm$ 5	7 $\pm$ 3	23$\pm$4b	4 $\pm$ 2	3 $\pm$ 2	4$\pm$2b
GLU di campo T0 (mmol/l)	A $\leq$ 2.5	15 $\pm$ 5	30 $\pm$ 6	6 $\pm$ 3	22 $\pm$ 6	7 $\pm$ 4	6 $\pm$ 3	6$\pm$3a
	B > 2.5	26 $\pm$ 4	25 $\pm$ 4	7 $\pm$ 2	14 $\pm$ 3	2 $\pm$ 1	5 $\pm$ 2	1$\pm$1b
GLU di campo T80/T0	A < 1.05	31$\pm$6a	19$\pm$5a	9 $\pm$ 4	10 $\pm$ 4	5 $\pm$ 3	3 $\pm$ 2	0 $\pm$ 0
	B 1.05 $\leq$ < 1.20	8$\pm$5b	16$\pm$6ab	3 $\pm$ 3	11 $\pm$ 5	0 $\pm$ 0	5 $\pm$ 4	3 $\pm$ 3
	C $\geq$ 1.20	23$\pm$5ab	36$\pm$5b	7 $\pm$ 3	24 $\pm$ 5	5 $\pm$ 2	6 $\pm$ 3	4 $\pm$ 2

a,b. Lettere diverse sulla stessa colonna per lo stesso parametro pre-parto indicano differenze statisticamente significative ($P < 0.05$) tra le classi.

Grafico 12 mostra le significatività ($P < 0.05$) tra Classi NEFA, BHB di campo, Glucosio di campo T0 e Rapporto Glucosio di campo T80/T0 in relazione alla prevalenza (%) di ritenzione placentare, metrite, mastite e dislocazione abomasale.

Grafico 12. Effetto delle classi di Classi NEFA, BHB di campo, Glucosio di campo T0 e Rapporto Glucosio di campo T80/T0 BCS su prevalenza di ritenzione placentare, metrite, mastite e dislocazione abomasale



*,** Asterischi diversi per la stessa patologia e per lo stesso parametro pre-parto indicano differenze statisticamente significative ($P < 0.05$) tra le classi.

Sono state calcolate le correlazioni di Pearson tra tutti i parametri clinici, metabolici e biochimici misurati pre-parto e l'incidenza di patologie post-parto, al fine di individuare indici precoci per la prevenzione delle manifestazioni cliniche.

In Tabella 7 sono riportate le correlazioni che sono risultate significative ($P > 0.05$).

Tabella 7. Correlazioni di Pearson tra parametri misurati pre-parto e incidenza di patologie post-parto.

	METRITE	MASTITE	DISLOCAZIONE ABOMASALE
BHB di campo	/	/	+0.273
BHB di laboratorio	/	+0.255	/
NEFA di laboratorio	/	+0.273	/
GLOBULINE	+0.392	+0.291	/
PROTEINE TOTALI	+0.379	+0.281	/

Correlazioni significative ($P > 0.05$)

In Tabella 8 sono riportati i risultati relativi all'effetto delle classi NEFA e Rapporto Glucosio di campo T80/T0 sui parametri produttivi. Le differenze statisticamente significative sono evidenziate in grassetto all'interno della tabella, e sono rappresentate anche nei grafici 13 e 14. Per quanto riguarda le classi BHB di campo, Glucosio di campo T0, Glucosio di campo T80, Rapporto Insulina T10/T0 e BCS non è risultato alcun effetto statisticamente significativo, e sono state quindi omesse dalla tabella.

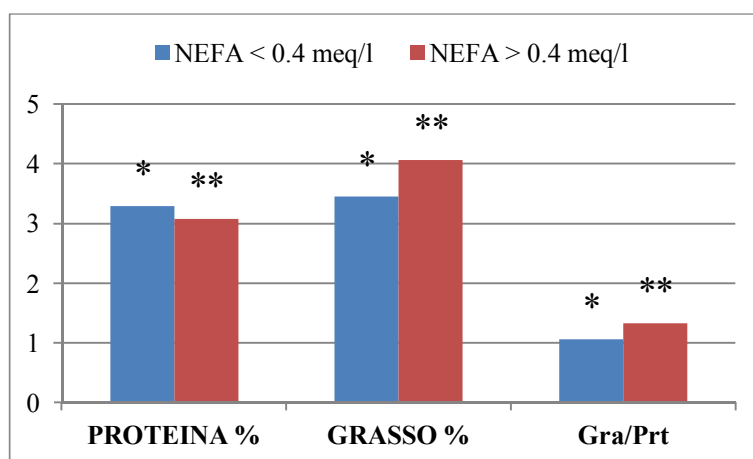
Tabella 8. Media $\pm$ SEM dei parametri produttivi in base alle classi NEFA e Glucosio di campo T80/T0 pre-parto.

Parametri pre-parto	Classi	Prodוז. 305 d (ql)	Proteina (%)	Grasso (%)	Gra/Prt	SCC (n°/ml)	Cellule Somatiche LN
NEFA (meq/l)	< 0.4	114.17 $\pm$ 13.93	3.29$\pm$0.05a	3.45$\pm$0.09a	1.06$\pm$0.03a	492.77 $\pm$ 131.51	5.03 $\pm$ 0.31
	> 0.4	100.81 $\pm$ 2.15	3.08$\pm$0.04b	4.06$\pm$0.14b	1.33$\pm$0.05b	703.91 $\pm$ 258.47	4.87 $\pm$ 0.33
GLU di campo T80/T0	< 1.05	86.90$\pm$4.71a	3.11 $\pm$ 0.05	4.23 $\pm$ 0.51	1.25 $\pm$ 0.17	480.78 $\pm$ 153.30	5.24 $\pm$ 0.43
	1.05 $\leq$ < 1.20	125.56$\pm$22.23b	3.23 $\pm$ 0.07	3.63 $\pm$ 0.14	1.11 $\pm$ 0.06	733.00 $\pm$ 254.33	5.09 $\pm$ 0.43
	$\geq$ 1.20	91.08 $\pm$ 3.97a	3.17 $\pm$ 0.04	3.78 $\pm$ 0.10	1.09 $\pm$ 0.05	568.57 $\pm$ 193.99	4.60 $\pm$ 0.41

a,b. Lettere diverse sulla stessa colonna per lo stesso parametro pre-parto indicano differenze statisticamente significative ($P < 0.05$) tra le classi.

Grafico 13 mostra le significatività ($P < 0.05$) tra classi NEFA rispetto a proteina (%), grasso (%) e rapporto grasso/proteina del latte.

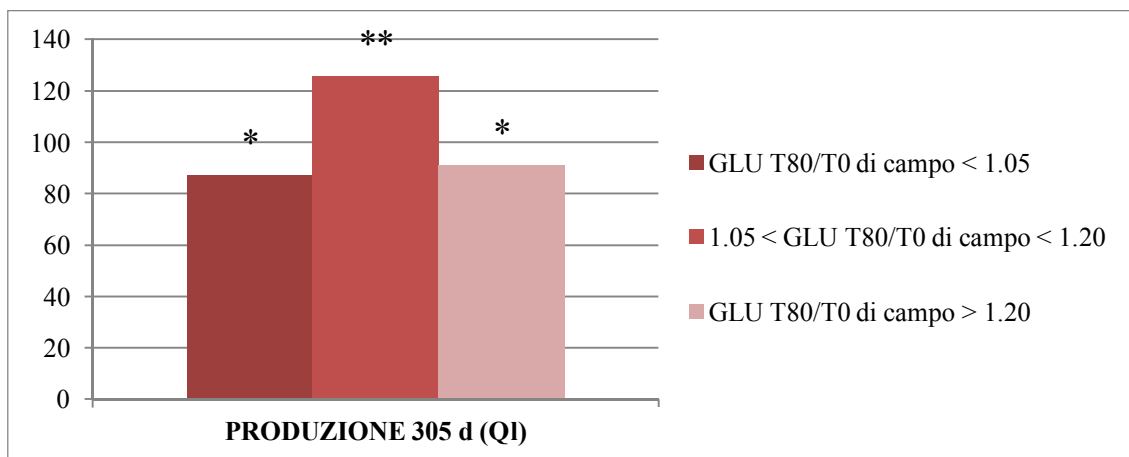
Grafico 13. Effetto delle classi di Classi NEFA pre-parto su proteina (%), grasso (%) e rapporto grasso/proteina del latte.



*,** Asterischi diversi per lo stesso parametro indicano differenze statisticamente significative ($P < 0.05$) tra le classi.

Nel grafico 14 invece sono riportate le significatività ($P < 0.05$) tra le Classi Rapporto Glucosio di campo T80/T0 rispetto alle produzioni.

Grafico 14. Effetto delle classi di Classi Rapporto Glucosio di campo T80/T0 pre-parto sulla produzione a 305 giorni



*,** Asterischi diversi per lo stesso parametro indicano differenze statisticamente significative ($P < 0.05$) tra le classi.

7. DISCUSSIONE

Il periodo di transizione costituisce il momento chiave del ciclo produttivo della vacca da latte, in quanto in questa fase avvengono cambiamenti fisiologici e metabolici tali da poter compromettere il futuro produttivo e riproduttivo dell'animale. La corretta gestione del periodo di transizione, dal punto di vista metabolico e nutrizionale, è fondamentale per favorire la risposta dell'animale al bilancio energetico negativo (BEN) e per prevenire, di conseguenza, lo sviluppo di patologie peripartali, oltre che per ottimizzare la produttività e la fertilità della bovina. La possibilità di monitorare in questa fase alcuni parametri come indicatori dei cambiamenti metabolici in atto, e quindi del rischio di sviluppo di alcune patologie nel post-parto, sarebbe uno strumento di fondamentale importanza per la prevenzione delle manifestazioni cliniche.

L'obiettivo di questo lavoro è stato quindi quello di individuare alcuni indici metabolici di facile impiego in campo che possano essere utili nell'analisi precoce del rischio di insorgenza di patologie peripartali.

Tra gli indici considerati vi sono parametri metabolici (β -idrossibutirrato, NEFA, glucosio basale, glucosio a 80 minuti dall'infusione di soluzione glucosata, insulina), parametri dell'esame biochimico (albumina gr/dl, Ca mg/dl, Cl mmol/l, P mg/dl, globuline gr/dl, glucosio mmol/l, AST u/l, ALT u/l, Mg mg/dl, K mmol/dl, Na mmol/l, PT g/dl, Urea mg/dl), parametri clinici e parametri produttivi. Alcuni parametri, come il la glicemia e il BHB, sono particolarmente interessanti ai fini dello studio, in quanto sono facilmente misurabili in campo, e permettono di valutare la risposta metabolica periferica (curva glicemica) e la presenza di disturbi metabolici, quali la chetosi subclinica (BHB).

Secondo i risultati delle analisi effettuate, i valori di glucosio (e di BHB) ottenuti con la misurazione di campo per mezzo dell'Optium Xceed sono attendibili, in quanto simili ai valori riportati dalle analisi di laboratorio. Quanto riscontrato trova conferma anche in letteratura (Oetzel and McGuirk, 2008; Voyvoda and Erdogan, 2010), e rende affidabile l'utilizzo del test di campo.

7.1 Indicatori Biochimici

Dall'analisi dei dati emerge che alcuni degli indici misurabili pre-parto risultano avere un effetto significativo su diversi parametri dell'esame biochimico. In particolare, gli effetti più numerosi sono stati osservati per le classi di NEFA (NEFA Classe A < 0.4 mEq/l; NEFA Classe B ≥ 0.4 mEq/l) e BHB di campo (BHB Classe A < 0.6 mmol/l; NEFA Classe B ≥ 0.6 mmol/l) pre-parto.

La concentrazione di NEFA e di BHB circolanti esprime il successo dell'adattamento dell'animale al BEN. Infatti la condizione di BEN, tipica del periodo di transizione, comporta un intenso processo di lipomobilizzazione, favorito anche da una minor concentrazione di insulina plasmatica. Il campionamento per i NEFA effettuato tra i 4 e i 10 giorni pre-parto è considerato il miglior indicatore dello stato energetico delle bovine a fine gestazione (Kunz et al., 1985; Kaneene et al., 1997; Duffield, 2004), ed è preferibile al BHB in quanto essi indicano l'entità della lipomobilizzazione (Adewuyi et al., 2005), che in questa fase è il fenomeno preponderante. Il BHB è invece il miglior indicatore dello stato metabolico post-parto, in quanto rispecchia l'entità dell'ossidazione lipidica epatica (LeBlanc, 2010) ed è il più abbondante e il più stabile a livello ematico tra i corpi chetonici (Pushpakumara et al., 2003). A causa delle fluttuazioni del livello plasmatico di NEFA e BHB durante la giornata, il prelievo ematico per i NEFA deve essere fatto prima del passaggio del carro unifeed, mentre quello per il BHB va eseguito 4 o 5 ore dopo la foraggiata. Per un'indagine in azienda dello stato metabolico delle bovine in transizione, il campionamento dovrebbe riguardare 12 bovine (Mulligan et al., 2006). Se più del 10% di questi animali presenta un valore di NEFA o di BHB superiore alla soglia critica, si è di fronte ad un problema di BEN. I valori soglia pre-parto riportati in letteratura come predittivi di patologie puerperali sono vari: per i NEFA vanno da 0.29 meq/l (Ospina et al., 2010a) a 0.4 meq/l (Oetzel, 2004; Whitaker, 1997) a 0.5 meq/l (LeBlanc et al., 2005), mentre per il BHB sono riportati valori di 0.6 mmol/l (Whitaker, 1997), 0.96 mmol/l (Ospina et al., 2010a), o 1.4 mmol/l (Oetzel, 2004). Nel presente studio, per valutare il valore predittivo della concentrazione di NEFA e di BHB pre-parto, sono stati scelti valori soglia di 0.4 meq/l per i NEFA e 0.6 mmol/l per il BHB.

Dal punto di vista metabolico, i Grafici 2 e 3 mostrano come le vacche con maggior lipomobilizzazione e ossidazione lipidica prima del parto abbiano anche una minore

sensibilità all'insulina, e questo si ripete anche durante la prima settimana di lattazione. Tale evidenza è giustificata dai cambiamenti omeoretici a cui va incontro la vacca in transizione, per i quali la minore sensibilità dei tessuti insulino-dipendenti all'insulina stessa è necessaria per aumentare la quota di glucosio disponibile per feto e mammella, ma porta, dall'altro lato, ad un aumento della lipomobilizzazione, con lo stesso meccanismo del Diabete Mellito Tipo II (Kasper et al., 2005).

Secondo il Grafico 4 inoltre, animali con NEFA alti a fine gravidanza presentano livelli di globuline molto più elevati rispetto alle bovine con NEFA bassi pre-parto, sia nella settimana precedente che nella settimana successiva al parto stesso. Questo risultato, come verrà discusso più approfonditamente in seguito, è probabilmente dovuto al fatto che la mobilizzazione lipidica provoca importanti alterazioni nella risposta immunitaria e infiammatoria della vacca in transizione (Contreras and Sordillo, 2011; Ketoh, 2002; Breukink and Wensing, 1997; Mallard et al., 1998; Kehrli et al., 2006). Il corrispondente aumento delle proteine totali può essere dovuto all'aumento delle globuline, ma anche al fatto che in questo periodo l'animale va incontro ad uno stato di disidratazione a causa del sequestro di liquidi in peritoneo a fine gravidanza o nella mammella per la produzione di latte, oppure a causa di eventuali infezioni, frequenti nel post-parto.

Allo stesso modo può essere spiegato l'aumento del sodio per lo stesso gruppo di animali osservabile nella seconda settimana post-parto (Tabella 2): la ritenzione di sodio è infatti uno dei meccanismi con cui l'organismo tenta di ripristinare l'equilibrio idrico. Tuttavia, le concentrazioni ematiche dei macroelementi devono essere interpretate con attenzione, valutando se il sistema omeostatico stia lavorando in modo efficiente. Oltre a misurare la concentrazione ematica dei macroelementi, il controllo dei parametri direttamente correlati alla funzionalità del sistema di regolazione omeostatica può offrire qualche approfondimento in relazione allo stato nutrizionale. Questo scopo può essere raggiunto tramite la misurazione delle modalità di escrezione, delle risposte dei tessuti bersaglio e dei regolatori omeostatici, che però non era obiettivo di questo lavoro.

Il livello di urea plasmatica (Grafico 5) risulta significativamente maggiore nella prima settimana post-parto per le bovine che presentavano NEFA elevati a fine gravidanza. Una simile condizione può essere associata a lipidosi epatica (Jorritsma et al., 2001), ma

anche ad un maggior catabolismo proteico per la produzione di amminoacidi gluconeogenetici.

Infine, trova ulteriore conferma in questo lavoro l'ipotesi che i NEFA possano essere un indicatore dello stato di salute del fegato. Infatti, una maggior lipomobilizzazione risulta essere connessa ad una maggiore concentrazione plasmatica della AST e ad una minore concentrazione della ALT (Grafico 6). L'effetto sulla AST può essere spiegato, oltre che dal fisiologico aumento dell'attività di questo enzima durante la lattazione (Stojević et al., 2005), anche da una situazione di lipidosi epatica, per la quale la AST è uno degli indicatori più sensibili (Kaneko et al, 2008; Cebra et al., 1997). Più in generale la AST anche nel bovino rivela la presenza di danno epatico, indipendentemente dalle manifestazioni cliniche (Kauppinen, 1984; Meyer e Harvey, 1998). L'effetto sulla ALT trova invece difficile spiegazione, anche se è riportato in letteratura un fisiologico calo della ALT tipico proprio di questo periodo (Stojević et al., 2005). Ad ogni modo, lo stato di chetosi si accompagna generalmente ad un'alterazione più o meno accentuata degli enzimi epatici: in tale circostanza infatti nella cellula epatica si verifica il massiccio ingresso di amminoacidi di provenienza muscolare, che ad opera delle transaminasi vengono trasformati in chetoacidi e quindi in glucosio per far fronte al fabbisogno energetico. L'aumento intracellulare delle transaminasi si traduce pertanto in un loro maggiore riversamento nel sangue, evento dosabile attraverso le relative analisi di laboratorio. Questi valori enzimatici devono essere interpretati insieme al colesterolo totale ed ai NEFA.

Per quanto riguarda invece il BHB, osservando la Tabella 2 si può notare come, in accordo con quanto detto a proposito del BEN, gli animali con chetonemia pre-parto più elevata siano quelli che hanno la minore concentrazione ematica di glucosio, soprattutto durante la prima settimana di lattazione.

Gli altri effetti che sono risultati significativi riguardo al BHB sono le minori concentrazioni ematiche di calcio e fosforo post-parto e le maggiori concentrazioni di cloro pre-parto in quegli animali con chetonemia elevata a fine gravidanza. Una minor concentrazione plasmatica di calcio e fosforo nella prima settimana di dopo il parto è in una certa misura fisiologica, in quanto è dovuta all'inizio della lattazione e alla produzione del primo colostro, estremamente ricco di questi due elementi. Il fatto che il calo sia più pronunciato nei soggetti con BHB pre-parto elevato è un'ulteriore indice del

fatto che ipocalcemia e ipofosforemia sono associati allo sviluppo di chetosi clinica o subclinica (Block et al., 2001).

Per quanto riguarda le concentrazioni di cloro a fine gravidanza, esse potrebbero essere indice di un'alterazione dell'equilibrio acido-base, ma tale affermazione non può essere confermata in quanto sono state effettuate analisi per verificare lo stato acido-base degli animali.

Tra l'ultima settimana di gravidanza e la prima settimana di lattazione si osserva nella vacca da latte un fenomeno di insulinoresistenza. Questo comporta una notevole riduzione dell'assorbimento del glucosio e l'inibizione della sintesi proteica da parte dei tessuti insulino-dipendenti. Sembra però che questo fenomeno non sia dovuto solamente ad una resistenza periferica all'ormone, ma anche ad una diminuzione nella sintesi e nella secrezione pancreatica dell'insulina stessa (Riuzzi et al., 2012). È noto infatti, che il grado di produzione e di attività dell'insulina è influenzato negativamente da vari ormoni, tra cui il GH, il cortisolo e la tiroxina (Hayirli, 2006), e dai NEFA, la cui concentrazione aumenta nel periodo di transizione e che sembrano avere un effetto diretto sull'attività secretoria delle cellule β del pancreas (Zhou and Grill, 1995; Maedler et al., 2001). Dato che la concentrazione dei NEFA nella vacca da latte solitamente cresce in modo significativo in vicinanza del momento del parto e raggiunge il picco entro la prima settimana di lattazione (Bossaert et al., 2008), è plausibile che si instauri contemporaneamente una condizione di insulino-resistenza, con livelli basali di ormone inferiori alla norma (Riuzzi et al., 2012). Dall'altro lato, una situazione di insulino-resistenza può essere indicativa di lipomobilizzazione e quindi di BEN. Inoltre, è stato osservato anche un effetto del livello di calcio ematico sulla secrezione di insulina e di conseguenza sulla glicemia: il calcio infatti è necessario per il rilascio dell'ormone in circolo (Kumar et al., 2005; Guyton and Hall, 2006).

Lo strumento che è stato scelto nel presente studio per la valutazione di questo stato metabolico, e cioè del grado di insulino-resistenza delle bovine, è il Test da Carico del Glucosio, che permette di valutare l'adequatezza della risposta periferica ad un aumento improvviso del glucosio ematico. Secondo la letteratura (Gianesella et al., 2009; Grunberg et al., 2011), in seguito all'infusione endovenosa di una soluzione glucosata sono necessari 80 minuti perché i livelli ematici di glucosio tornino ai valori basali (3.0 mmol/l). Successivamente, in base al rapporto tra T80 e T0 è possibile individuare gli

animali che rispondono normalmente all'infusione da quelli "intolleranti", ovvero che non riescono a ripristinare la normo-glicemia in tempi fisiologici (Riuzzi et al., 2012). Sebbene non sia possibile risalire alla causa di tale intolleranza, poiché essa potrebbe essere attribuita ad una resistenza da parte dei tessuti periferici all'insulina ma anche ad un'insufficienza pancreatica, è comunque plausibile che tali soggetti possano avere maggiori probabilità di sviluppare dismetabolie e processi patologici. È stato effettuato un prelievo ematico anche 10 minuti dopo il termine dell'infusione del glucosio, allo scopo di valutare la concentrazione ematica di insulina, che dovrebbe in questo momento raggiungere il picco (Hayirli, 2001; Balogh et al., 2009).

A questo proposito, il Grafico 7, mostra chiaramente come dopo il parto la sensibilità all'insulina sia minore in quegli animali che già a fine gravidanza presentavano valori di glicemia superiori a quello fisiologico, in accordo con quanto detto in precedenza relativamente ai meccanismi di insulino-resistenza peripartali. Normalmente, la concentrazione basale di glucosio ematico cala bruscamente al parto per poi risalire gradualmente durante le settimane successive. La riduzione della concentrazione di glucosio durante la prima settimana di lattazione corrisponde, a livello metabolico, da una parte al sequestro del glucosio da parte dei tessuti mammari, dall'altra ad uno stato di bilancio energetico negativo, che si rispecchia nel corrispondente aumento di NEFA e BHB ematici. Il fatto che la differenza tra le due classi diventi significativa solo dopo il parto è probabilmente dovuto al peggioramento del BEN.

Per quanto riguarda i parametri dell'esame biochimico, dal Grafico 8 si nota come le bovine che prima del parto presentavano glucosio basale inferiore al valore fisiologico, presentavano contestualmente anche una maggiore concentrazione di globuline plasmatiche. Questo andamento si ripete anche per la prima settimana di lattazione, ma senza che la differenza sia significativa. L'aumento delle globuline in questa fase quindi, può essere spiegato con l'effetto che il BEN ha sulla funzionalità immunitaria dell'animale, più che con la presenza di una patologia in atto. Questo in virtù del fatto che, come già discusso, una bassa glicemia pre-parto corrisponde ad alti NEFA e quindi a BEN. Di nuovo, il comportamento delle Proteine Totali rispecchia quello delle globuline, e ciò spiega analogamente a quanto già detto a proposito dello stesso effetto riscontrato per le classi di NEFA, cioè con l'aumento delle globuline stesse o con uno stato di disidratazione dell'animale.

L'andamento della ALT illustrato nel Grafico 9 trova anche in questo caso difficile spiegazione, e vale quanto già detto a proposito della classe NEFA.

Il rapporto tra glucosio a T80 e a T0 valuta l'effettiva capacità dell'animale di far tornare la glicemia ai valori basali dopo un carico di glucosio, e deve idealmente risultare uguale a 1. Anche se non vi sono stati risultati statisticamente significativi relativamente agli indici HOMA e QUICKI, questo rapporto rappresenta il grado di risposta insulinica del soggetto. In altri studi infatti è stata rilevata una diminuzione nel rilascio di insulina in quegli animali che avevano rapporto $T80/T0 > 1.20$ (Riuzzi et al., 2012). È risultata però significativa l'associazione tra tale rapporto e il BHB di laboratorio (Grafico 10): sembra infatti che livelli crescenti di BHB (e quindi il rischio di chetosi) siano associati ad una minore risposta periferica all'insulina o ad una sua minore produzione. Tale risultato trova ampia conferma anche in bibliografia (Holtenius, 1993; Sakai et al., 1993; Steen et al., 1997).

La ridotta disponibilità di glucosio e la conseguente mobilizzazione lipidica tipica del periodo di transizione comportano l'utilizzo delle riserve adipose dell'animale, cosa che si riflette in un calo del BCS (Body Condition Score). È fisiologico infatti, durante la prima fase di lattazione, un certo dimagrimento delle bovine (Drackley et al., 2001) ma questo non deve essere eccessivo (massimo 1 punto di BCS tra parto e picco di lattazione) (Mulligan et al., 2006). Il BCS ideale di una vacca al momento del parto dovrebbe essere compreso tra 3.0 e 3.5. Un BCS inferiore è associato ad una minore produzione di latte e a problemi riproduttivi, mentre un BCS superiore comporta la riduzione del DMI e della produzione durante la prima fase di lattazione e predispone allo sviluppo di disturbi metabolici (Roche et al., 2009). Infatti, animali più grassi iniziano a mobilizzare una quantità molto maggiore di NEFA già prima del parto, e questo processo continua anche durante la prima settimana di lattazione. Oltre al BCS al momento del parto, ai fini della predisposizione a patologie del puerperio è importante valutare la perdita di BCS durante la prima fase di lattazione. Infatti animali più grassi al parto e che perdono più di un punto di BCS in lattazione sono più sensibili allo stress ossidativo (Bernabucci et al., 2005), hanno maggiori NEFA plasmatici (Rukkwamsuk et al., 1998), e hanno maggiore probabilità di sviluppare patologie metaboliche (Cameron et al., 1998; Studer, 1998; Buckley et al., 2003), e maggiori problemi di fertilità (Ferguson, 1991). Anche animali troppo magri al momento del parto ($BCS < 2.5$) hanno

più probabilità di andare incontro a disturbi metabolici post-parto come la chetosi. Al contrario, bovine con scarso BCS ma con bassi livelli di NEFA e BHB plasmatici non mostreranno alcun segno di malattie metaboliche (Studer, 1998).

Anche se la letteratura riporta è l'entità del calo del BCS durante la prima fase di lattazione ad essere più fortemente associata all'insorgenza di patologie del puerperio (Jorritsma et al., 2001), in questo studio si è cercata una eventuale correlazione tra il BCS a fine gravidanza e la prevalenza di patologie post-parto, nell'ottica di individuare indici utili alla prevenzione delle manifestazioni cliniche.

A livello di parametri dell'esame biochimico, è risultato significativo che bovine con valori maggiori di BCS a fine gravidanza tendono ad avere maggiori livelli ematici di NEFA pre-parto e di BHB post-parto (Grafico 11), che rispecchiano infatti una maggiore condizione di lipomobilizzazione e di successiva ossidazione lipidica. In questo senso quindi, il monitoraggio del BCS al momento del parto è utile per valutare la predisposizione delle bovine allo sviluppo di patologie metaboliche, come la chetosi, nelle prime settimane di lattazione, che possono a loro volta porre le basi per l'insorgenza di altre patologie cliniche.

Inoltre, sembra che le bovine con un BCS basso subito dopo il parto, presentino maggiori concentrazioni di sodio ematico (Tabella 5). È possibile che il fisiologico stato di disidratazione a cui vanno le bovine incontro che all'inizio della lattazione si rifletta in una apparente perdita in BCS.

7.2 Parametri Clinici e Produttivi

Alcuni parametri misurati nel pre-parto, sono risultati essere associati allo sviluppo di patologie tipiche del post-partum (Tabella 6), e al livello produttivo futuro delle bovine (Tabella 8).

Il Grafico 12 mostra una prevalenza significativamente maggiore di metrite e di mastite in quegli animali che avevano valori di NEFA pre-parto maggiori di 0.4 meq/l. Infatti, è noto che concentrazioni elevate di NEFA alterano la risposta immunitaria e infiammatoria della vacca in transizione, e che gli adattamenti metabolici al BEN hanno profonde conseguenze non solo sulla disponibilità di energia, ma anche sulla risposta infiammatoria e immunitaria. La mobilizzazione dei lipidi può alterare l'equilibrio tra lo sviluppo dell'infiammazione e la sua risoluzione, favorendo in tal modo risposte

infiammatorie eccessive che sono tra i maggiori eventi fisiopatologici di alcune malattie della vacca in transizione, comprese mastite e metrite. Inoltre, i cambiamenti nella concentrazione e composizione dei lipidi plasmatici, dovuti alla lipomobilizzazione, influenzano direttamente l'attività dei leucociti aumentando la suscettibilità alle patologie (Contreras and Sordillo, 2011).

Analogamente, gli animali con BHB pre-parto maggiore di 0.6 mmol/l sono risultati avere maggiore prevalenza di mastite e dislocazione abomasale. Diversi studi confermano questa evidenza, anche se spesso il valore di BHB preso in considerazione è quello della prima settimana di lattazione. In particolare, valori elevati di BHB ($> 1.2 - 1.4$ mmol/l, chetosi subclinica) sono associati ad un maggior rischio di DA (3 – 8 volte) (LeBlanc et al, 2005; Duffield et al., 2009), metrite, chetosi clinica, endometrite, prolungato periodo anovulatorio post-parto, maggior gravità delle mastiti, e minore produzione di latte nella prima fase di lattazione (LeBlanc, 2010).

I risultati ottenuti in merito a NEFA e BHB trovano quindi ampio riscontro in letteratura (Cameron et al., 1998; LeBlanc et al., 2005; Duffield et al., 2002; Kaneene et al., 1997; Oetzel, 2004), anche se sembra che la correlazione più forte con le patologie puerperali sia in realtà quella con il valore di NEFA post-parto (Ospina et al., 2010a).

Non stupisce nemmeno che i soggetti con glicemia basale pre-parto già inferiore al livello normale siano risultati essere quelli con maggiore prevalenza di dislocazione abomasale. Probabilmente questi animali, partendo da una situazione di ipoglicemia, sono stati quelli con BEN post-parto più grave, che si sa essere associato allo sviluppo di patologie puerperali, tra cui la DA (LeBlanc et al., 2005).

Infine, gli animali che hanno risposto normalmente al test da carico ($T80/T0 \approx 1$) hanno presentato minore prevalenza di ritenzione placentare e di metrite rispetto a quelli che non sono stati in grado di ripristinare la glicemia basale entro i tempi fisiologici, sia in eccesso che in difetto. Gli animali che presentavano $T80/T0 > 1.20$ si trovavano probabilmente in una condizione di insulinoresistenza, a causa dei meccanismi sopra descritti, che non permetteva di far rientrare entro il range fisiologico il livello di glucosio ematico dopo il carico. Quelli che invece presentavano $T80/T0 < 1.05$ si trovavano probabilmente nella condizione opposta, cioè il loro BEN era tale che tutto il glucosio somministrato durante il carico è stato completamente consumato, scendendo addirittura sotto la soglia basale. Entrambe queste alterazioni dell'omeostasi del

glucosio portano ad una scarsa disponibilità dello stesso ai tessuti periferici, predisponendo quindi allo sviluppo di patologie post-parto.

Infine, non è risultata invece alcuna differenza significativa nella prevalenza di patologie post-parto in base al valore di BCS pre-parto.

Sono state poi calcolate le correlazioni presenti tra BCS, parametri biochimici e parametri metabolici misurabili pre-parto e insorgenza di patologie cliniche post-parto, al fine di individuare indici precoci per la prevenzione delle manifestazioni cliniche.

Pochi parametri sono risultati essere correlati in modo significativo con alcune patologie tipiche della prima fase di lattazione (Tabella 7).

In accordo con la letteratura, dall'analisi statistica è emerso che i valori di NEFA e BHB a fine gravidanza sono correlati positivamente con lo sviluppo di alcune patologie post-parto (mastite e dislocazione abomasale), anche se l'indice di correlazione è basso (sempre inferiore allo 0.3).

In particolare, dal nostro studio emerge che il BHB misurato in campo con lo strumento Optium Xceed è correlato positivamente con lo sviluppo di dislocazione abomasale. La correlazione tra BHB e DA trova conferma anche in altri lavori scientifici (LeBlanc, 2010). Il BHB misurato in laboratorio invece, risulta essere correlato all'insorgenza di mastite. La discrepanza tra i due valori di BHB è imputabile alla sottile ma pur sempre presente differenza tra la misura fornita dallo strumento e quella data dal laboratorio. Come il BHB di laboratorio, anche i NEFA sono risultati essere correlati con lo sviluppo di mastite. Questo perché la lipomobilizzazione e i corpi chetonici circolanti vanno ad alterare l'equilibrio della risposta infiammatoria e l'attività dei componenti del sistema immunitario, predisponendo fortemente allo sviluppo delle patologie tipiche della vacca in transizione, tra cui la mastite (Contreras and Sordillo, 2011). Un risultato interessante infine, che può avere un valore per l'attività del veterinario di campo, è quello relativo alla correlazione positiva emersa tra globuline e proteine totali misurate pre-parto e lo sviluppo di metrite e mastite post-parto. In particolare, la correlazione soprattutto delle globuline con l'insorgenza di metrite è risultata essere abbastanza forte, poiché raggiunge quasi lo 0.4. Tale esito si trova in accordo con le informazioni presenti in letteratura (Rubino et al., 2013). L'aumento delle globuline, e di conseguenza spesso delle proteine totali, è tipico di infezioni in atto. È normale quindi trovare in una vacca affetta da mastite o da metrite concentrazioni aumentate di globuline e/o di PT (Magnus

and Lali, 2009). Il fatto che questi parametri abbiano anche un certo valore predittivo sta ad indicare che il processo che porta allo sviluppo di queste patologie inizia probabilmente già prima del momento del parto, con un'alterazione della funzione immunitaria che è strettamente collegata al BEN. La soluzione del problema quindi, andrà ancora una volta cercata nella prevenzione, e molto probabilmente nella gestione alimentare e/o strutturale dell'asciutta.

Per quanto riguarda i parametri produttivi (Tabella 8), sembra che le bovine con NEFA alti a fine gravidanza producano successivamente un latte con più bassa concentrazione di proteina, più alta concentrazione di grasso, e di conseguenza maggior rapporto grasso-proteina rispetto alle bovine con NEFA < 0.4 meq/l pre-parto (Grafico 13). Questo perché una maggior quantità di NEFA circolanti, associata al dirottamento di tutto il glucosio disponibile verso la mammella, aumenta la sintesi mammaria di trigliceridi, mentre la sintesi proteica rimane costante o addirittura diminuisce al peggiorare del BEN. Una correlazione tra rapporto grasso-proteina e bilancio energetico negativo è stata riscontrata anche in altri lavori (Mulligan et al., 2006), ed è stata riportata anche una diminuzione significativa della produttività in 305 d per quegli animali che avevano NEFA e BHB alti pre-parto (Ospina et al., 2010b). Nel presente studio il BHB non è risultato essere associato significativamente ad alcun parametro produttivo, tuttavia è emerso che gli animali con maggiore produzione a 305 d sono quelli che rispondono correttamente al carico di glucosio, mentre la produzione risulta ugualmente minore in entrambe le situazioni di alterazione dell'omeostasi del glucosio (Grafico 14), in accordo con quanto detto in precedenza a proposito degli effetti del BEN sulla produzione.

8. CONCLUSIONI

Il periodo di transizione rappresenta la fase più critica del ciclo produttivo della vacca da latte. È in questo arco di tempo infatti che si concentra la maggiore prevalenza di patologie da produzione (ritenzione placentare, metrite, mastite, dislocazione abomasale, collasso puerperale, zoppia, problemi di fertilità,...), che costituiscono la principale causa di riforma in allevamento. È ormai noto che l'insorgenza di queste patologie è strettamente legata all'entità e alla capacità delle bovine di adattarsi allo stato di bilancio energetico negativo (BEN) che caratterizza questa particolare fase produttiva. Il monitoraggio e la prevenzione delle patologie puerperali è quindi di fondamentale importanza per assicurare la salute e il benessere degli animali in allevamento, oltre che il reddito per l'allevatore. Inoltre, l'approccio al problema deve essere di tipo integrato, prevedendo cioè la collaborazione di allevatore, veterinario, nutrizionista, ed eventualmente altri professionisti, per risolvere le condizioni che portano gli animali ad un eccessivo BEN.

A questo scopo, lo studio condotto si è proposto di individuare alcuni parametri facilmente misurabili in campo che siano indicativi dello stato metabolico presente delle bovine e quindi predittivi dello sviluppo di patologie puerperali.

In accordo con quanto riportato in letteratura, gli indici misurabili a fine gravidanza che sono risultati essere maggiormente associati all'insorgenza di patologie nel post-parto (metrite, mastite, dislocazione abomasale) sono stati il BHB, i NEFA e la glicemia basale. Anche la risposta al Test da Carico del Glucosio (GTT) è risultata essere associata all'insorgenza di metrite e di ritenzione placentare.

Tutti questi parametri si sono rivelati buoni indicatori dello stato energetico e metabolico dell'animale, rispecchiando anche in una certa misura il grado di insulino-resistenza delle bovine, tipico di questo periodo. Si è visto inoltre che gli stessi fattori incidono su vari parametri biochimici del post-parto.

Il BHB e la Glicemia basale sono facilmente misurabili in campo grazie a dispositivi portatili come l'Optium Xceed, e rappresentano quindi un utile strumento per il veterinario aziendale. Per quanto riguarda i NEFA invece, essi sono il miglior parametro predittivo pre-parto, ma per la loro misurazione non è ancora disponibile alcun test di campo, ed è quindi necessario rivolgersi ad un laboratorio di analisi. Infine, anche il GTT può essere un utile mezzo per la valutazione dello stato metabolico dell'animale in

azienda, ma richiede tempo e manualità per essere eseguito, tanto più che dovrebbe essere effettuato su un campione di animali in transizione.

È stato valutato anche il valore predittivo del BCS pre-parto, ma senza alcun risultato significativo. In letteratura è riportato che la più forte associazione è quella tra patologie puerperali e perdita di BCS post-parto. Quindi, invece di considerare una misura puntiforme di BCS, potrebbe essere interessante in uno studio futuro valutare la presenza di una corrispondenza tra le patologie post-parto e la differenza di BCS tra inizio e fine dell'asciutta. Infatti in questa fase spesso si può osservare un dimagrimento delle bovine, che può sottostare ad un peggioramento del BEN.

Infine, è stata trovata una correlazione positiva anche tra globuline e proteine totali pre-parto e lo sviluppo di metrite (+0.4) e mastite (+0.3) post-parto ($P < 0.05$). Questo è un risultato interessante, in quanto gli stessi parametri potrebbero essere facilmente misurati anche con test di campo.

Tuttavia, una volta constatato lo stato metabolico delle bovine, rimane tuttora difficile consigliare il tipo di intervento da effettuare sugli animali esaminati, in quanto ci sono ancora poche informazioni in letteratura relative all'efficacia e al modo di utilizzo a scopo profilattico di glicole propilenico, destrosio, sali propionati, corticosteroidi o insulina. Una delle possibili terapie è l'infusione endovenosa di soluzione glucosata al 50% e di calcio per quelle bovine che presentano la condizione peggiore.

Ancora una volta dunque, l'approccio alle patologie puerperali deve essere quello della prevenzione a livello di allevamento e non della terapia del singolo animale.

9. BIBLIOGRAFIA

Adewuyi A.A., Gruys E., van Eerdenburg FCM. Non esterified fatty acids (NEFA) in dairy cattle. A review. *Vet Q* 2005; 27: 117-126.

Ametaj B.N., B. J. Bradford, G. Bobe, Y. Lu, R. Nafikov, R. N. Sonon, J. W. Young, D. C. Beitz, 2002. Acute phase response indicates inflammatory conditions may play a role in the pathogenesis of fatty liver in dairy cows, *Journal of Dairy Science*, 85:189.

Balogh O, O Szepes, K Kovacs, M Klucsar, J Reiczigel, JA Alcazar, M Keresztes, H Febel, J Bartyik, SG Fekete, L Fesus and G Huszenicza, 2008; Interrelationship of growth hormone *AluI* polymorphysm, insulin resistance, milk production and reproductive performance in Holstein- Friesian cows. *Veterinari Medicina* 53: 604-616.

Bauman D.E., J. M. Elliot, 1983. *Biochemistry of Lactation*, pp. 437-468.

Bauman, D. E., and W. B. Currie. 1980. Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: a review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. *Journal of Dairy Science* 63:1514-1529.

Bell, A.W. 1995. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. *J. Anim. Sci.* 73:2804-2819.

Bell, A.W. 1996. The transition cow: actualized homeorhesis. *Proc. 58th Cornell Nutr. Conf. Feed Manuf. Cornell University, Ithaca, NY.*

Bell, A.W., R. Slepatis, and R.A. Ehrhardt. 1995. Growth and accretion of energy and protein in the gravid uterus during late pregnancy. *J. Dairy Sci.* 78:1954-1961.

Bernabucci U., B. Ronchi, N. Lacetera, and A. Nardone, 2005. Influence of Body Condition Score on Relationships Between Metabolic Status and Oxidative Stress in Periparturient Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 88:2017–2026.

Bertics, S.J., R.R. Grummer, C. Cardorniga-Valino, and E.E. Stoddard. 1992. Effect of prepartum DMI on liver triglyceride concentration and early lactation. *J. Dairy Sci.* 75:1914-1922.

Bertoni G., Calamari L., Trevisi E., 2000. Alterazioni della funzionalità epatica nel puerperio e conseguenze sulla fertilità della bovina. *La Riproduzione in Zootecnica*. G. Enne, and R. Rossi, ed. Ministero Politiche Agricole Forestali, Milan, Italy 3: 195–223

Bionaz, M., E. Trevisi, L. Calamari, F. Librandi, A. Ferrari, and G. Bertoni. 2007. Plasma Paraoxonase, Health, Inflammatory Conditions, and Liver Function in Transition Dairy Cows. *Journal of Dairy Science* 90:1740-1750.

Block S.S., W.R. Butler, R.A. Ehrhardt, A.W. Bell, M.E. Van Amburgh, Y.R. Boisclair, 2001. Decreased concentration of plasma leptin in periparturient dairy cows is caused by negative energy balance, *Journal of Endocrinology*, 171:339–348.

Block, E. 1984. Manipulating dietary anions and cations for prepartum cows to reduce incidence of milk fever. *J. Dairy Sci.* 67:2939-2948.

Bonczek R.R., C.W. Young, J.E. Wheaton, K.P. Miller, 1988. Responses of Somatotropin, Insulin, Prolactin, and Thyroxine to Selection for Milk Yield in Holsteins, *Journal of Dairy Science*, 71:2470–2479.

Bossaert P., J.L.M.R. Leroy, S. De Vliegher, G. Opsomer , 2008. Interrelations Between Glucose-Induced Insulin Response, Metabolic Indicators, and Time of First Ovulation in High-Yielding Dairy Cows, *Journal of Dairy Science*, 91:3363–3371.

Braden T. D., Fry C., Sartin J. L., 1998. Effects of interleukins on secretion on luteinizing hormone from ovine pituitary cells. *American Journal of Veterinary Research* 59: 1488–1493.

Breukink H. J., Wensing T., 1997. Pathophysiology of the liver in high yielding dairy cows and its consequences for health and production. *Israel Journal of Veterinary Medicine* 52: 66–72.

Bruuna J., A.K. Ersbølla, L. Alban, 2002. Risk factors for metritis in Danish dairy cows. *Preventive Veterinary Medicine* , 54: 179–190.

Buckley, F., K. O’Sullivan, J. F. Mee, R. D. Evans, and P. Dillon. 2003. Relationships among milk yield, body condition, cow weight, *Journal of Dairy Science* Vol. 88, No. 6, 2005 and reproduction in spring-calved Holstein-Friesians. *J. Dairy Sci.* 86:2308-2319.

Butler W.R., 2010. Energy metabolism and insulin resistance in dairy cattle, *Large Animal Review*, 16: 301-304.

Butler, W.R., R.W. Everett, and C.E. Coppock. 1981. The relationships between energy balance, milk production and ovulation in postpartum Holstein cows. *J. Anim. Sci.* 53:742-748.

Calamari L., Maianti M. G., Bertoni G., 1997. Relazioni fra potenzialità produttiva, problemi nel puerperio e fertilità nella vacca da latte. *Studio Della Efficienza Riproduttiva degli Animali di Interesse Zootecnico–9° Meeting Nazionale*, Bergamo, Italy. A. Galli and C. Previtali, ed. Coop. Paolo VI, Gorgonzola, Milan, Italy pages 99–103.

Cameron, R. E. B., P. B. Dyk, T. H. Herdt, J. B. Kaneene, R. Miller, H. F. Bucholtz, J. S. Liesman, M. J. VanDehaar, and R. S. Emery. 1998. Dry cow diet, management, and

energy balance as risk factors for displacement abomasums in high producing dairy herds. *J. Dairy Sci.* 81:132-139.

Cebra, C. K., F. B. Gerry, D. M. Getzy, M. J. Fettman, 1997. Hepatic lipidosis in anorectic, lactating holstein cattle: retrospective study of serum biochemical abnormalities, *Journal of Internal Veterinary Medicine*, 4:231-237.

Constable, P.D., G.Y. Miller, G.F. Hoffsis, B.L. Hull, and D.M. Rings. 1992. Risk factors for abomasal volvulus and left abomasal displacement in cattle. *Am. J. Vet. Res.* 53:1184-1192.

Contreras A. G., Sordillo M.L., 2011. Lipid mobilization and inflammatory responses during the transition period of dairy cows. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 34: 281–289.

Coppock, C.E. 1974. Displaced abomasum in dairy cattle: etiological factors. *J. Dairy Sci.* 57:926-933.

Curtis, C.R., H.N. Erb, C. J. Sniffen, and R.D. Smith. 1984. Epidemiology of parturient paresis: predisposing factors with emphasis on dry cow feeding and management. *J. Dairy Sci.* 67:817-825.

Curtis, C.R., H.N. Erb, C.J. Sniffen, R.D. Smith, and D.S. Kronfeld. 1985. Path analysis of dry period nutrition, postpartum disease, reproductive performance and mastitis in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 68:2347-2360.

Daniel, R.C.W. 1983. Motility of the rumen and abomasum during hypocalcaemia. *Can. J. Comp. Med.* 47:276-288.

Drackley J. K., T. R. Overton, and G. N. Douglas. 2001. Adaptations of glucose and long-chain fatty acid metabolism in liver of dairy cows during the periparturient period. *Journal of Dairy Science* 84:100-112.

Drackley, J. K. 1999. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? *J. Dairy Sci.* 82:2259-2273.

Drackley, J. K., H. M. Dann, G. N. Douglas, N. A. Janovick Guretzky, N. B. Litherland, J. P. Underwood, and J. J. Loores. 2005. Physiological and pathological adaptations in dairy cows that may increase susceptibility to periparturient diseases and disorders (invited review). *Italian Journal of Animal Science* 4:323-344.

Drackley, J.K. 1997. Minimizing ketosis in high producing dairy herds. *Proc. Tri-State Dairy Nutrition Conference*. M.L. Eastridge, ed.

Duffield, T. 2004. Monitoring strategies for metabolic disease in transition dairy cows. Pages 34–35 in *Le Medicin Veterinaire du Quebec. Proc. 23th World Buiatrics Congress*, Quebec, Canada.

Duffield, T.F., K.D. Lissemore, B. McBride, and K.E. Leslie. 2009. Impact of hyperketonemia in early lactation dairy cows on health and production. *Journal of Dairy Science* 92:571.580.

Duffield, T., R. Bagg, L. DesCoteaux, E. Bouchard, M. Brodeur, D. DuTremblay, G. Keefe, S. LeBlanc, and P. Dick. 2002. Prepartum monensin for the reduction of energy associated disease in postpartum dairy cows. *J. Dairy Sci.* 85:397–405.

Duffield, T.F. 1997. Effects of a monensin controlled-release capsule on energy metabolism, health and production in lactating dairy cattle. D. Sc. Thesis. University of Guelph, Ontario Canada.

Dyk, P., and R. Emery. 1996. Reducing the incidence of peripartum health problems. *Proc. Tri-State Dairy Nutr. Conf.*, M.L. Eastridge, ed.

Edmondson, A. J., D. Lean, I. D. Weaver, T. Farver, and G. Webster. 1989. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science* 72:68.78.

Emanuelson U., and P.A. Oltenacu. 1998. Incidences and effects of diseases on the performance of Swedish dairy herds stratified by production. *J. Dairy Sci.* 81:2376-2382.

Ferguson J.D., 1991. Nutrition and reproduction in dairy cows, *Veterinary Clinics of North America*, 7:483.

Ferguson, J. D. 2001. Nutrition and reproduction in dairy herds. In: *Proc. 2001 Intermountain Nutr. Conf.*, Salt Lake City, UT, pages 65-82.

Fleck A., 1989. Clinical and nutritional aspects of changes in acute phase proteins during inflammation. *Proceedings of Nutrition Society* 48: 347–354.

Garnsworthy, P.C. 1989. The effect of energy reserves at calving on performance of dairy cows. *Nutrition and Lactation in the Dairy Cows. Proc. 46th University of Nottingham Easter School in Agricultural Science.* P.C. Garnsworthy, Ed. Butterworths, London, UK.

Geishauser, T., M. Shoukri, D. Kelton, and K. Leslie. 1998. Analysis of survivorship after displaced abomasum is diagnosed in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 81:2346-2353.

Gianesella M, Cannizzo C, Casalone M, Morgante M, 2009. Cows response to glucose tolerance test (GTT) and periparturient diseases: preliminary study. *J. Anim. Sci.* Vol. 87, E-Suppl. 2/J. Dairy Sci. Vol. 92, E-Suppl. 1, pg 385.

- Goff J. P., and R. L. Horst R.L. 1997. Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. *Journal of Dairy Science* 80: 1260-1268.
- Goff, J.P. 1999. Dry cow nutrition and metabolic disease in periparturient cows. *Adv. Dairy Technol.* 11:63-79.
- Goff, J.P. 2008. Transition Cow Immune Function and Interaction with Metabolic Diseases. Tri-State Dairy Nutrition Conference, April 22 and 23, 2008.
- Grant, R.J., and J.L. Albright. 1995. Feeding behavior and management during the transition period in dairy cattle. *J. Anim. Sci.* 73:2791-2803.
- Grimble R. F., 1990. Nutrition and cytokine action. *Nutrition Research Reviews* 3: 193–210.
- Grummer, R.R. 1995. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. *J. Anim. Sci.* 73:2820-2833.
- Grunberg W, SS Donkin and PD Constable, 2011; Periparturient effects of feeding a low dietary cation-anion difference diet on acid-base, calcium, and phosphorus homeostasis and on intravenous glucose tolerance test in high-producing dairy cows. *J. Dairy Sci.* 94: 727–745.
- Guard, C. 1996. Fresh cow problems are costly: culling hurts the most. Page 100. In: *Proc. 1994 Ann. Conf. Vet., Cornell Univ., Ithaca, NY.*
- Guyton AC and JE Hall, 2006; "Chapter 78: Insulin, Glucagon, and Diabetes Mellitus". *Textbook of Medical Physiology* (11th ed.). Philadelphia: Elsevier Saunders. pp. 963–68.
- Hammon, D. S., I. M. Evjen, T. R. Dhiman, J. P. Goff, and J. L. Walters. 2006. Neutrophil function and energy status in Holstein cows with uterine health disorders. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 113:21.29.
- Hayirli A, DR Bremmer, SJ Bertics, MT Socha and RR Grummer, 2001; Effect of chromium supplementation on production and metabolic parameters in periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 84: 1218–1230.
- Hayirli, A. 2006. The role of exogenous insulin in the complex of hepatic lipidosis and ketosis associated with insulin resistance phenomenon in postpartum dairy cattle. *Veterinary Research Communications* 30:749-774.
- Hayirli, A., R.R. Grummer, E. Nordheim, P. Crump, D.K. Beede, M.J. VandeHaar, and L.H. Kilmer. 1998. A mathematical model for describing DMI of transition dairy cows. *J. Dairy Sci.* 81 (Suppl. 1):296.

Hendry K.A.K., et al. 1999. Effect of endocrine and paracrine factors on protein synthesis and cell proliferation in bovine hoof tissue culture, *Journal of Dairy Research*, 66:23-33.

Herdt T. H., 2000. Ruminant adaptation to negative energy balance. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 16: 215-230.

Herzog, K. 2001. Versuche zur pankreatischen Insulin-Response von trockenstehenden und laktierenden Kuhen sowie Kuhen mit Leberverfettung mittels intravenosem Glucose-toleranztest und hyperglykämischer Clamp-Technik. Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Grades einer Doktorin der Veterinärmedizin (Dr. Med. Vet.) durch die Tierärztliche Hochschule Hannover.

Holtenius P, 1993; Hormonal regulation related to the development of fatty liver and ketosis. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 89: S55–S60.

Holtenius, K., S. Agenas, C. Delavaud, and Y. Chilliard. 2003. Effects of Feeding Intensity during the Dry Period. 2. Metabolic and Hormonal Responses. *Journal of Dairy Science* 86:883-891.

Holtenius, P., and K. Holtenius. 2007. A model to estimate insulin sensitivity in dairy cows. *Acta Veterinaria Scandinavica* 49:29-31.

Holtenius, P., and M. Traven. 1990. Impaired glucose tolerance and heterogeneity of insulin responses in cows with abomasal displacement. *Zentralblatt für Veterinärmedizin Reihe A* 37:445-451.

House, W.A., and A.W. Bell. 1994. Sulfur and selenium accretion in the gravid uterus during late gestation in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 77:1860-1869.

Hove K., 1978. Insulin secretion in lactating cows: Responses to glucose infused intravenously in normal, ketonemic, and starved animals. *Journal of Dairy Science* 61: 1407-1413.

Huzzey J.M., D.M. Veira, D.M. Weary, M.A.G. Von Keyserlingk, 2007. Prepartum behavior and dry matter intake identify dairy cows at risk for metritis, *Journal of Dairy Science*, 90:3220–3233.

Ingvarsen K.L., 2006. Feeding and management-related diseases in the transition cow. Physiological adaptations around calving and strategies to reduce feeding-related diseases, *Animal Feed Science and Technology*, 126:175–213.

Ingvarsen, K. L., R. J. Dewhurst, and N. C. Friggens. 2003. On the relationship between lactational performance and health: Is it yield or metabolic imbalance that causes production diseases in dairy cattle? A position paper. *Livestock Production Science* 83:277-308.

- Johnson C.A., 2008. Glucose homeostasis during canine pregnancy: Insulinresistance, ketosis, and hypoglycaemia, *Theriogenology*, 70:1418–1423.
- Jones, W.B., L.B. Hansen, and H. Chester-Jones. 1994. Response of health care to selection for milk yield of dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 77:3137-3152.
- Jorritsma R., H. Jorritsma, Y.H. Schukken, P.C. Bartlett, T. Wensing, G.H. Wentink, 2001. Prevalence and indicators of post partum fatty infiltration of the liver in nine commercial dairy herds in the Netherlands, *Livestock Production Science*, 68:53–60.
- Kahn C. R., 1978. Insulin resistance, insulin insensitivity, and insulin unresponsiveness: a necessary distinction. *Metabolism* 27: 1893-1902.
- Kaneene, J. B., R. Miller, T. H. Herdt, and J. C. Gardiner. 1997. The association of serum nonesterified fatty acids and cholesterol, management and feeding practices with peripartum disease in dairy cows. *Prev. Vet. Med.* 31:59–72.
- Kaneko J.J., J.W. Harvey, M.L. Bruss, 2008. *Clinical biochemistry of domestic animals*, pp.356–365.
- Kasper D., Braunwald E., Fauci A., Hauser S., Longo D., Jameson J. L., 2005. *Harrison, Principi di Medicina Interna*. Mc Graw Hill pages 2427-2458.
- Katoh N., 2002. Relevance of apolipoproteins in the development of fatty liver and fatty liver-related peripartum diseases in dairy cows. *The Journal of Veterinary Medical Science* 64: 293–307.
- Katz A, SS Nambi, K Mather, AD Baron, DA Follmann, G Sullivan, MJ Quon, 2000; Quantitative insulin sensitivity check index: a simple, accurate method for assessing insulin sensitivity in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 85: 2402-2410.
- Kauppinen K., 1984. ALAT, AP, ASAT, GGT, OCT, activities and urea and total bilirubin concentrations in plasma of normal and ketotic dairy cows, *Zentralblatt Fur Veterinarmedizin A*, 31:567-576.
- Kehrli M.E., J.D. Neill, C. Burvenich, J.P. Goff, J.D. Lippolis., T.A. Reinharadt, et al, 2006. Energy and protein effects on the immune system, *Ruminant Physiology*, 455–471.
- Kelton D. F., Lissemore K. D., Martin R. E., 1998. Recommendations for recording and calculating the incidence of selected clinical diseases of dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 81: 2502–5209.
- Kerestes M, V Faigl, M Kulcsa, O Balogh, J Foldi, H Febel, Y Chilliard and G Huszenicza, 2009; Periparturient insulin secretion and whole-body insulin

responsiveness in dairy cows showing various forms of ketone pattern with or without puerperal metritis. *Domest. Anim. Endocrinol.* 37: 250-261

Kertz, A.F., L.F. Reutzel, and G.M. Thomson. 1991. DMI from parturition to mid-lactation. *J. Dairy Sci.* 74:2290-2295.

Kimura K., J.P. Goff, M.E. Kehrli, T.A. Reinhardt, 2002. Decreased neutrophil function as a cause of retained placenta in dairy cattle, *Journal of Dairy Science*, 85:544–550.

Kumar V, AK Abbas and N Fausto, 2005; "Chapter 24: The Endocrine System". Robbins and Cotran, *Pathologic Basis of Disease* (7th ed.). Philadelphia: Elsevier Saunders. Pag. 1191–193.

Kunz, P. L., J. W. Blum, I. C. Hart, H. Bickel, and J. Landis. 1985. Effects of different energy intakes before and after calving on food intake, performance and blood hormones and metabolites in dairy cows. *Anim. Prod.* 40:219–231.

Lacetera, N., D. Scalia, U. Bernabucci, B. Ronchi, D. Pirazzi, and A. Nardone. 2005. Lymphocyte functions in overconditioned cows around parturition. *Journal of Dairy Science* 88:2010.2016.

Lanna, D.P.D., and D.E. Bauman. 1999. Effect of somatotropin, insulin and glucorticocoid on lypolysis in chronic cultures of adipose tissue from lactating cows. *J. Dairy Sci.* 82:60-68.

Laven R.A., A.R. Peters, 1996. Bovine retained placenta: aetiology, pathogenesis and economic loss, *Veterinary Record*, 139:465–471.

LeBlanc S., 2010. Monitoring Metabolic Health of Dairy Cattle in the transition Period, *Journal of reproduction and development*, 56:29-35.

LeBlanc, S. J., K. E. Leslie, and T. F. Duffield. 2005. Metabolic predictors of displaced abomasum in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 88:159–170.

Loor J.J., H. M. Dann, N. A. Janovick Guretzky, R. E. Everts, R. Oliveira, C. A. Green, N. B. Litherland, S. L. Rodriguez-Zas, H. A. Lewin, J. K. Drackley, 2006. Plane of nutrition prepartum alters hepatic gene expression and function in dairy cows as assessed by longitudinal transcript and metabolic profiling. *Physiological Genomics*, 27:29-41.

Maedler K, GA Spinas, D Dyntar, W Moritz, N Kaiser and MY Donath, 2001; Distinct effects of saturated and monounsaturated fatty acids on β -cell turnover and function. *Diabetes* 50: 69–76.

Magnus, P. K., Lali, F. A., 2009. Serum biochemical profile of post-partum metritic cow. *Veterinary World* ,Vol. 2 ,No. 1, pp. 27-28.

- Mallard B.A., J. C. Dekkers, M. J. Ireland, K. E. Leslie, S. Sharif, C. Lacey Vankampen, L. Wagter, B. N. Wilkie, 1998. Alteration in Immune Responsiveness During the Peripartum Period and Its Ramification on Dairy Cow and Calf Health, *Journal of Dairy Science*, 81:585-595.
- Marcos, E., A. Mazur, P. Cardot, and Y. Rayssiguier. 1990. Serum apolipoproteins B and A-1 and naturally occurring fatty liver in dairy cows. *Lipids* 25:575-577.
- Markusfeld, O. 1987. Periparturient traits in seven high dairy herds. Incidence rates, association with parity and interrelationships among traits. *J. Dairy Sci.* 70:158-166.
- Massey, C.D., C. Wang, G.A. Donovan, and D.K. Beede. 1993. Hypocalcemia at parturition as a risk factor for left displaced abomasum in dairy cows. *JAVMA* 203:852-853.
- Matthews DR, JP Hosker, AS Rudenski, BA Naylor, DF Treacher and RC Turner, 1985; Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 28: 412-419.
- Melendez P., G.A. Donovan, C.A. Risco, R. Littell, J.P. Goff, 2003. Effect of calcium-energy supplements on calving-related disorders, fertility and milk yield during the transition period in cows fed anionic diets. *Theriogenology*, 60: 843–854.
- Meyer D. J., J. W. Harvey, 1998. Evaluation of hepatobiliary system and skeletal muscle and lipid disorders, *Veterinary Laboratory Medicine. Interpretation and Diagnosis*, pp. 157-187.
- Moate P.J., J.R. Roche, L.M. Chagas, R.C. Boston, 2007. Evaluation of a compartmental model to describe non-esterified fatty acid kinetics in Holstein dairy cows, *Journal of Dairy Research* In press
- Mulligan F.J., L. O'Grady, D.A. Rice, M.L. Doherty, 2006. A herd health approach to dairy cow nutrition and production diseases of the transition cow, *Animal Reproduction Science*, 96:331–353
- Oetzel GR and SM McGuirk, 2008; Evaluation of a hand-held meter for cowside evaluation of blood betahydroxybutyrate and glucose concentrations in dairy cows. *Proc. Am. Assoc. Bov. Pract.* 41: 234.
- Oetzel, G.R., 2004. Monitoring and testing dairy herds for metabolic disease. *Vet. Clin. Food Anim. Pract.* 20, 651–674.
- Oetzel, G.R., J.D. Olson, C.R. Curtis, M.J. Curtis, and M.J. Fettman. 1988. Ammonium chloride and ammonium sulfate for prevention of parturient paresis in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 71:3302-3309.

Oetzel, G.R., J.D. Olson, C.R. Curtis, M.J. Curtis, and M.J. Fettman. 1988. Ammonium chloride and ammonium sulfate for prevention of parturient paresis in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 71:3302-3309.

Oikawa, S., and G. R. Oetzel. 2006. Decreased insulin response in dairy cows following a four-day fast to induce hepatic lipidosis. *Journal of Dairy Science* 89:2999-3005.

Ospina P. A., Nydam D. V., Stokol T., Overton T. R., 2010a. Evaluation of nonesterified fatty acids and β -hydroxybutyrate in transition dairy cattle in the northeastern United States: Critical thresholds for prediction of clinical diseases. *J. Dairy Sci.* 93:546–554.

Ospina P. A., Nydam D. V., Stokol T., Overton T. R., 2010b. Association between the proportion of sampled transition cows with increased nonesterified fatty acids and β -hydroxybutyrate and disease incidence, pregnancy rate, and milk production at the herd level. *Journal of Dairy Science* 93: 3595-3601

Perseghin G, A Caumo, M Caloni, G Testolin, L Luzi, 2001; Incorporation of the fasting plasma FFA concentration into QUICKI improves its association with insulin sensitivity in non obese individuals. *J Clin Endocrinol Metab* 86: 4776-4781.

Petterson, J. A., F. R. Dunshea, R. A. Ehrhardt, and A. W. Bell. 1993. Pregnancy and undernutrition alter glucose metabolic responses to insulin in sheep. *Journal of Nutrition* 123:1286-1295.

Pryce, J. E., Coffey M. P., Simm G., 2001. The relationship between body condition score and reproductive performance. *Journal of Dairy Science* 84: 1508–1515.

Pushpakumara, P. G. A., N. H. Gardner, C. K. Reynolds, D. E. Beever, and D. C. Wathes. 2003. Relationships between transition period diet, metabolic parameters and fertility in lactating dairy cows. *Theriogenology* 60:1165–1185.

Quigley, J.D., and J.J. Drewry. 1998. Nutrient and immunity transfer from cow to calf pre- and post-calving. *J. Dairy Sci.* 81:2779-2790.

Rabiee, A.R., I.J. Lean, J.M. Gooden, and B.G. Miller. 1999. Relationships among metabolites influencing ovarian function in the dairy cow. *J. Dairy Sci.* 82:39-44.

Radostis, O.M., Gay, C.C., Hinchcliff, K.W., Constable, P.D. 2007. *Veterinary medicine – a textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats*, 10th edn. Saunders Elsevier, New York, NY. 7: 383-386, 29: 1011-1016.

Riuzzi S., E. Fiore , M. Ganesella, M. Morgante, 2012. Correlation between a field glucose tolerance test (fgtt) in the transition dairy cow and b-ohb, glycemia and diseases incidence detected in a field trial. XXVII World Buiatrics Congress 2012, p. 96.

- Robb, E.J., C. Johnstone, C. Barton, R. Munson, W. Gardner, and R. Stoltzfus. 1986. Epidemiological study of risk factors of abomasal displacement. *J. Dairy Sci.* 69 (Suppl. 1):150.
- Robertson, J.M. 1968. Left displacement of the bovine abomasum: epizootiologic factors. *Am. J. Vet. Res.* 29:421-434.
- Robinson, P.H. 1997. Effect of yeast culture (*Sacchromyces cerevisiae*) on adaptation of cows to diets postpartum. *J. Dairy Sci.* 80:1119-1125.
- Robinson, P.H., and J.E. Garrett. 1999. Effect of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on adaptation of cows to postpartum diets and on lactational performance. *J. Anim. Sci.* 77:988-999.
- Roche J.R. , N.C. Friggens , J.K. Kay , M.W. Fisher , K.J. Stafford , D. P. Berry, 2009. Invited review: Body condition score and its association with dairy cow productivity, health, and welfare, *Journal of Dairy Science*, 92 :5769–5801.
- Rubino, G., Deramo, S., Nocco, A., Loglisci, A., Lacinio, R., Selvaggi, M., Lacalandra, G. M., 2013. Evaluation of peripartum hematochemical and metabolic profile to identify cattle at risk for metritis. XIII Middle European Buiatrics Congress, Belgrade, Serbia, 5-8 June, 2013, pp. 497-502
- Rukkwamsuk, T., T. Wensing, and M.J.H. Geelen. 1999. Effect of fatty liver on hepatic gluconeogenesis in periparturient cows. *J. Dairy Sci.* 82:500-505.
- Rukkwamsuk, T., T. Wensing, and M. J. H. Geelen. 1998. Effect of overfeeding during the dry period on regulation of adipose tissue metabolism in dairy cows during the periparturient period. *J.Dairy Sci.* 81:2904–2911.
- Sakai T, T Hayakawa, M Hamakawa, K Ogura and S Kubo, 1993; Therapeutic effects of simultaneous use of glucose and insulin in ketotic dairy cows. *J. Dairy Sci.* 76: 109–114.
- Sato S., Suzuki T., Okada K., 1995. Suppression of mitogenic response of bovine peripheral blood lymphocytes by ketone bodies. *The Journal of Veterinary Medical Science* 57: 183–185.
- Schrick F. N., Hockett M. E., Saxton A. M., Lewis M. J., Dowlen H. H., Oliver S. P., 2001. Influence of subclinical mastitis during early lactation on reproductive parameters. *Journal of Dairy Science* 84: 1407–1412.
- Shaver, R.D. 1997. Nutritional risk factors in the etiology of left displaced abomasum in dairy cows : a review. *J. Dairy Sci.* 80: 2449-2453.

- Shaver, R.D. 1997. Nutritional risk factors in the etiology of left displaced abomasum in dairy cows : a review. *J. Dairy Sci.* 80: 2449-2453.
- Shaver, R.D. 1998. Prevent abomasal displacements. *Adv. Dairy Technol.* 10:279-285.
- Simianer, H., H. Sobu, and L.R. Schaeffer. 1991. Estimated genetic correlations between disease and yield traits in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 74:4358-4365.
- Steen A, H Grantor and PA Tureen, 1997; Glucose and insulin responses to glucagon injection in dairy cows with ketosis and fatty liver. *J. Vet. Med.* 44: 521–530.
- Stojević Z., J. Piršljn, S. Milinković-Tur, M. Zdelar-Tuk, B. Beer Ljubić, 2005. Activities of AST, ALT and GGT in clinically healthy dairy cows during lactation and in the dry period. *VETERINARSKI ARHIV* 75 (1), 67-73.
- Studer, E. 1998. A veterinary perspective of on-farm evaluation of nutrition and reproduction. *J. Dairy Sci.* 81:872-876.
- Van den Top, A.M., M.J. Geelen, T. Wensing, G.H. Wentink, A.T. Van't Klooster, and A.C. Beynen. 1996. Higher postpartum hepatic triacylglycerol concentrations in dairy cows with free rather than restricted access to feed during the dry period are associated with lower activities of hepatic glycerolphosphate acyltransferase. *J. Nutr.* 126:76-85.
- VandeHaar, M.J., and S.S. Donkin. 1999. Protein nutrition of dry cows. *Proc. Tri-State Dairy Nutr. Conf.*, M.L. Eastridge, ed.
- Voyvoda H and H Erdogan, 2010; Use of a hand-held meter for detecting subclinical ketosis in dairy cows. *Res. Vet. Sci.* 89 (3): 344-351.
- Wallace, R. L., G. C. McCoy, T. R. Overton, and J. H. Clark. 1996. Effect of adverse health events on dry matter consumption, milk production, and body weight loss of dairy cows during early lactation. *J. Dairy Sci.* 79(Suppl 1):205 (Abstr).
- Wang, C. 1990. Influence of dietary factors on calcium metabolism and incidence of parturient paresis in dairy cows. Ph. D. Dis. Univ. Florida, Gainesville.
- Zhou YP and V Grill, 1995; Long term exposure to fatty acids and ketones inhibits B-cell functions in human pancreatic islets of Langerhans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 80: 1584–1590.

This document was created with Win2PDF available at <http://www.win2pdf.com>.
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.
This page will not be added after purchasing Win2PDF.