

## **CONSERVAZIONE E PROTEZIONE DELLE TARTARUGHE MARINE MEDITERRANEE: RUOLO DEL VETERINARIO**

Mavropoulou A. - Zannetti G. <sup>1</sup>

### **PREMESSA**

La professionalità che il veterinario esprime gli consente l'accesso a funzioni e compiti fra i più diversi, dall'attività clinica "classica", alla trasformazione e igiene degli alimenti, all'alimentazione e alla gestione sanitaria degli animali in produzione zootecnica, ma sarebbe utile scoprire (o riscoprire !) la sua competenza più strettamente biologica, di cui possiede sicuramente i presupposti culturali indispensabili e che gli aprirebbero nuovi e qualificanti orizzonti professionali.

Non bisogna dimenticare, inoltre, che il veterinario può mettere a disposizione la propria competenza anche a livello di volontariato, con un impegno da affiancare ad altre attività al momento più redditizie, al solo scopo di soddisfare esigenze interiori, psicologiche o culturali, di più ampio respiro e con sviluppi di elevato contenuto sociale.

In questo spirito si è sviluppata l'esperienza riferita nella presente nota, in cui la competenza professionale del veterinario si è messa a disposizione gratuita di un'attività di conservazione e protezione delle tartarughe marine nel Mediterraneo.

### **PROBLEMI DI CONSERVAZIONE DELLE SPECIE DI TARTARUGHE MARINE**

L'Unione Internazionale per la Conservazione della Natura (IUCN), l'organizzazione che si occupa dei problemi delle specie e biotopi naturali minacciati di estinzione, ha indicato 7 specie di tartarughe marine minacciate di sopravvivenza e, in particolare, le 3 specie presenti nel Mediterraneo sono classificate come in pericolo di estinzione. Anche per questo motivo è vietato il commercio internazionale di tutti i prodotti che derivano dallo sfruttamento delle tartarughe marine, in accordo con quanto riportato all'Appendice I della Convenzione CITES (Baterworth, 1997).

La gravità del pericolo di estinzione che corrono le tartarughe marine si giustifica con le seguenti realtà biologiche:

- 1) Tutte le popolazioni delle tartarughe marine che hanno subito un grande sfruttamento in passato si sono ridotte di numero oppure si sono già estinte.
- 2) Ogni popolazione è geneticamente isolata e distinta e non può sostituire o essere sostituita da un'altra, in quanto esistono consistenti diversità biologiche ed ecologiche anche tra le popolazioni della stessa specie.

---

<sup>1</sup> Dipartimento di Salute Animale dell'Università di Parma – Sezione di Clinica Medica

3) Anche se le femmine depongono un grande numero di uova, questo non basta ad assicurare la continuità della specie: per raggiungere la maturità sessuale questi animali impiegano un periodo di tempo molto lungo (da 15 a 50 anni) e c'è una mortalità molto elevata tra i soggetti giovani o giovanissimi, tanto che su 1000 piccoli solamente 1 arriva all'età adulta (Baterworth, 1997).

#### *Fattori di minaccia naturale*

Un pericolo naturale consistente per le tartarughe marine adulte, i loro piccoli e le uova deriva dalle avverse condizioni climatiche. Il vento, la pioggia, il freddo e il mare troppo forte influenzano tutti gli stadi della vita dei cheloni. Le tartarughe adulte, infatti, possono soffrire di colpi di freddo, con conseguenze molto dannose per la loro salute, mentre sulle uova, che necessitano di un ambiente caldo e poco umido per lo sviluppo embrionale, gli improvvisi abbassamenti della temperatura, come accade nei temporali (Baterworth, 1997), nonché le fluttuazioni anomale delle maree causano facilmente una consistente riduzione della percentuale di schiusa e una mortalità elevata dei tartarughini (Ferri, 1999).

La predazione naturale delle uova e dei piccoli è opera principalmente di volpi, cani randagi ed altri carnivori. Per i neonati altre minacce sono rappresentate da uccelli marini, cornacchie e pesci predatori. Per le tartarughe adulte, l'unico pericolo è costituito dagli squali (Baterworth, 1997).

Un'ultima insidia per la sopravvivenza delle specie marine di cheloni è dovuta all'apparato radicale di piante che crescono vicino ai nidi, che ingloba le uova, impedendo così l'ossigenazione e la fuoriuscita dei piccoli oppure avvelena gli embrioni con l'emissione di sostanze tossiche (Ferri, 1999).

#### *Fattori di minaccia antropici*

##### *Cattura e commercio per fini alimentari*

Anche se in Italia e in Grecia le tartarughe marine non sono mai state oggetto di sfruttamento commerciale, in diverse parti del mondo i cheloni rappresentano una fonte di proteine per l'alimentazione delle popolazioni umane che vivono in ambienti ostili e isolati. Soltanto laddove la loro uccisione ha assunto intensità commerciale e non di consumo diretto, però, le diverse specie coinvolte hanno subito un tracollo o la maggior parte delle loro popolazioni è scomparsa. E' il caso soprattutto della tartaruga verde, *Chelonia mydas*, che viene catturata primariamente in occasione degli assembramenti riproduttivi sulle spiagge di nidificazione, per ricavarne non solo carne e calipè (la cartilagine presente sulle zampe), ma anche lamine cornee e ossa (usate per costruire gioielli o utensili) oppure la corazza intera (Ferri, 1999).

In molte culture orientali, le uova delle tartarughe marine vengono consumate, oltre che per il valore nutritivo, anche per le loro presunte qualità afrodisiache (Lutcavage et al., 1996). La raccolta di uova sui nidi ha così eliminato diverse popolazioni di *Chelonia mydas* e *Dermodochelys coriacea* della penisola Malese, dell'Indonesia e delle Filippine (Ferri, 1999).

### *Attività di pesca e cattura accidentale*

Centinaia di tartarughe marine muoiono annualmente a causa dei sistemi di pesca intensivi, soprattutto per annegamento dopo essere rimaste impigliate nelle chilometriche reti a strascico dei motopescherecci e nelle spadare (Ferri, 1999). Per evitare questa strage, dal 1987 (Lutcavage et al., 1996) nelle acque degli Stati Uniti questo tipo di pesca è consentito solo se lo strascico è collegato a sistemi di liberazione automatica delle tartarughe rimaste intrappolate (Ferri, 1999), che riducono del 50-70% la cattura accidentale delle tartarughe marine (Lutcavage et al., 1996).

Le attività di pesca con l'utilizzo delle reti, del "palamito", una robusta corda di canapa o di nylon al quale sono applicate numerose lenze ed ami, (Di Bello et al., 1994) o, addirittura, di esplosivi hanno effetti molto dannosi e talvolta letali sulle tartarughe. Quest'ultimo tipo di pesca è illegale ed ha degli effetti catastrofici anche sul loro habitat naturale (Arianoutsou, 1988), distruggendo le aree di alimentazione.

### *Inquinamento da idrocarburi*

Nelle aree marine coinvolte in catastrofici versamenti in mare di nafta e petrolio per incidenti a navi petroliere, molte tartarughe marine vengono trovate morte o agonizzanti (Ferri, 1999; Lutcavage et al., 1996).

### *Detriti e rifiuti di origine antropica*

Possono essere fonte di problemi sanitari e di morte sia per la loro ingestione, sia per intrappolamento in rottami vaganti (Lutcavage et al., 1996).

### *Alterazione delle spiagge di nidificazione*

Il fattore antropico più importante che minaccia le tartarughe marine è rappresentato dalla riduzione drammatica delle spiagge di nidificazione. Lo sfruttamento di queste spiagge, principalmente a scopi turistici, crea numerosi problemi alle tartarughe influenzando in modi diversi i processi di nidificazione, di incubazione e di schiusa (Baterworth, 1997).

Le luci artificiali di alberghi, bar, ristoranti localizzati dietro le spiagge, attraggono i neonati appena fuoriusciti dal nido in direzione opposta rispetto al mare. Questo disorientamento causa la morte per disidratazione o per affaticamento dei piccoli. La presenza delle luci in prossimità della spiaggia può scoraggiare le femmine adulte, che abbandonano ogni tentativo di nidificazione e ritornano in mare. E' probabile, inoltre, che queste stesse tartarughe nelle notti successive scelgano spiagge limitrofe più tranquille in cui, dunque, la concentrazione dei nidi potrebbe diventare troppo elevata (Baterworth, 1997), fino a far mancare le condizioni ideali per la deposizione delle uova. L'arrivo continuo di "nuovi" esemplari in aree ristrette, infatti, disturba le nidificazioni già in atto, portando allo scoperto e distruggendo le uova già deposte (Ferri, 1999).

L'uso delle spiagge di nidificazione da parte dei turisti può risultare molto dannoso per la costruzione dei nidi e l'incubazione delle uova. Il calpestio delle spiag-

gie, inoltre, provoca la compattazione della sabbia, alterando gli scambi gassosi tra uova e ambiente esterno e rendendo l'escavazione del nido molto più difficile e faticosa (Baterworth, 1997)

Le vibrazioni del terreno, causate dal movimento di persone o di veicoli sulla spiaggia, stimolano i tartarughini che si trovano sotto la superficie in attesa dell'abbassamento notturno della temperatura ambientale e ne induce l'uscita all'esterno durante il giorno, quando la temperatura della superficie della sabbia è troppo elevata, fino ad essere letale (Baterworth, 1997).

La fuoriuscita prematura dei tartarughini dal nido può essere causata anche dall'escavazione accidentale (per esempio, giocando con la sabbia) o deliberata (per vedere le piccole tartarughe) da parte dei turisti (Arianoutsou, 1988). I giochi sulla sabbia (castelli, pozzi ecc.) possono intrappolare i piccoli durante la loro corsa verso il mare (Baterworth, 1997).

Ombrelloni, sdraio, pedalò ed altri accessori estivi possono creare ombra sui nidi alterando la temperatura di incubazione e, di conseguenza, anche il rapporto numerico tra maschi e femmine. Quando questi oggetti vengono lasciati sulla spiaggia anche durante la notte, possono ridurre lo spazio disponibile per la nidificazione ed impedire il passaggio delle femmine o dei tartarughini. L'infissione di oggetti (ombrelloni, ecc.) nella spiaggia può distruggere intere covate (Arianoutsou, 1988).

Nelle ore notturne i turisti interessati a vedere le tartarughe marine disturbano le femmine, che facilmente rinunciano alla nidificazione e ritornano in mare, soprattutto se si molestano gli animali con i flash delle macchine fotografiche o i fari delle telecamere (Margaritoulis, 1986).



Fig. 1 Fuoriuscita di tartarughini dal nido (da STPS).

Il traffico di veicoli sulla spiaggia, oltre a provocare la compattazione della sabbia con il rischio del collasso della camera delle uova, provoca la formazione di impronte profonde, che possono intrappolare i tartarughini. A volte i piccoli iniziano a seguire queste tracce, che generalmente corrono parallelamente alla riva e, anche se alla fine riescono a trovare l'acqua, sono ormai troppo stremati per prendere il largo (Margaritoulis, 1986).

Le tartarughe sono in grado di sentire i rumori a bassa frequenza e quindi possono essere disturbate dalla presenza, in prossimità delle spiagge, di impianti acustici di grande potenza, come quelli in attività notturna nelle discoteche e altri locali pubblici (Margaritoulis, 1986).

In alcune spiagge, inoltre, per creare aree d'ombra per i bagnanti, sono stati piantati degli alberi, che crescendo danneggiano le uova e gli embrioni e impediscono l'escavazione dei nidi da parte delle femmine adulte. Le radici, infatti, sottraggono acqua, ossigeno e sostanze nutritive dal microambiente del nido, distruggono le uova esercitando una pressione meccanica e intrappolando i piccoli dopo la schiusa. Inoltre, l'ombra fornita dai loro rami influisce sull'incubazione e sul rapporto numerico dei 2 sessi (Margaritoulis, 1986).

Per finire, un ulteriore, grave pericolo per le tartarughe è rappresentato dal passaggio di motoscafi in prossimità delle spiagge di nidificazione, che può causare lesioni traumatiche, anche letali, alle tartarughe in cerca di un sito per la deposizione delle uova (Margaritoulis, 1986).



Fig. 2 L'area di nidificazione di *Caretta caretta* nella spiaggia di Laganas (Zacinto).

## OSSERVAZIONI ED ESPERIENZE PERSONALI

### *Attività nelle aree di nidificazione*

Durante il periodo dal 17/7/2000 al 15/8/2000 la dott. Mavropoulou Antonia ha lavorato come volontaria al progetto per la protezione delle tartarughe marine dell'STPS alla baia di Laganas nell'isola di Zacinto. L'STPS o "Archelon" è la società greca per la protezione della tartaruga marina, che da quasi 20 anni lavora per conservare questa specie nel Mediterraneo.

L'isola di Zacinto è situata nel mare Ionio ed è caratterizzata da un clima caldo e da sole insistente. La nidificazione delle tartarughe avviene principalmente nelle spiagge della baia di Laganas, localizzata al sud dell'isola. Le sue spiagge si estendono per circa 20 Km e l'acqua in prossimità della costa è poco profonda. Le attività turistiche sono concentrate soprattutto attorno ai paesi di Laganas, Ormos Keriou e Kalamaki, ma coinvolgono in misura diversa

Le spiagge di nidificazione, partendo dalla parte occidentale della baia, sono: Marathonissi, Laganas orientale, Kalamaki, Sekania, Dafni e Gerakas e sono protette da una legislazione specifica (Margaritoulis et al., 1994).

L'attività dell'STPS è sostanzialmente di tipo educativo-informativo (biologia delle tartarughe marine, programmi e strumenti di protezione della specie e del relativo ambiente di vita) e scientifico-biologico (raccolta di dati e osservazioni sull'attività riproduttiva, sulle dinamiche delle popolazioni di tartarughe, sulle eventuali patologie) presenta due aspetti: il primo è quello di fornire informazioni riguardanti le attività delle tartarughe, i metodi di protezione e di conservazione della specie e come evitare di danneggiare questo sottile equilibrio, il secondo è un programma scientifico di registrazione dell'attività riproduttiva di questi animali.



Fig. 3 Tartaruga *Caretta caretta* con le pinne craniali amputate per intrappolamento in filo da pesca

In detta attività e nel periodo suddetto, la dott. Mavropoulou ha fatto parte di uno dei gruppi di volontari ai quali viene data da studiare una determinata zona della spiaggia che ogni mattina viene percorsa.

Una volta avvistate le impronte lasciate dalle tartarughe, ciascun gruppo verifica, innanzitutto, se vi è stata o no la deposizione.

In ambedue i casi, i volontari annotano accuratamente le coordinate del sito, in modo da mappare la zona affidata al loro controllo. Se vi è stata schiusa delle uova, si contano le impronte per poter calcolare in modo approssimativo il loro numero. Oltre alle loro tracce, se si presume che la schiusa si sia completata, si verifica in loco il numero totale iniziale delle uova, il numero di quelle non schiuse, il numero di eventuali embrioni non nati e il numero di tartarughini nati ma immediatamente morti.

Durante la notte, i volontari ispezionano le zone suddette per monitorare le femmine che si preparano all'ovodeposizione, avendo cura di disturbarle il meno possibile. Le tartarughe, infatti, tollerano la presenza di solo una o due persone durante la deposizione delle uova (Miller, 1996). Con queste precauzioni, il volontario introduce una mano nel nido e conta le uova man mano che vengono deposte. A deposizione completata, si controllano le pinne della madre per verificare la presenza o meno di targhette di identificazione e si procede alla misurazione dell'esemplare.

Nelle ore centrali del giorno, poi, i volontari contano il numero delle persone presenti sulla spiaggia e in mare, il numero delle imbarcazioni in mare e ormeggiate, il numero degli ombrelloni e delle sdraio, mentre ai turisti viene fatto compilare un questionario, che ha lo scopo di monitorare l'uso "balneare" della spiaggia e lo spazio e tempo di "occupazione" della stessa.

Nel tardo pomeriggio, infine, si provvede ad abbattere le costruzioni in sabbia e a riempire le buche fatte dai bambini sulla spiaggia e, al tramonto, si informa il pubblico che non è permesso l'accesso alla spiaggia nelle ore notturne. Nonostante le assicurazioni ricevute dai bagnanti, i volontari rimangono a turni sulla spiaggia per gran parte della notte, per impedire intrusioni che potrebbero disturbare l'ovodeposizione.

### *Considerazioni sull'esperienza a Zacinto*

Il soggiorno e la partecipazione all'attività di volontariato svolta sulle spiagge di nidificazione ha avuto ovviamente una valenza scientifica e professionale, ma è stata sicuramente formativa, tanto da indurci a consigliarla a quanti, soprattutto veterinari, abbiano intenzione di dedicarsi a questa specie animale o solamente acquisire conoscenze biologiche generali.

L'approccio con la biologia di questi innocui bestioni, la forza e la testardaggine con cui realizzano l'istinto di conservazione della specie, sfidando enormi difficoltà e rischi consistenti per la loro stessa vita, la serenità apparente con cui tornano da dove sono venuti abbandonando il nido pieno di uova con la certezza che la natura stessa provvederà a condurre il prodotto del concepimento al loro ambiente naturale, il mare, sono altrettanti motivi di commozione, come se si assistesse ad un dramma di amore e morte di cui si conosce tutto, ma non per questo meno toccante e coinvolgente.

Allo stesso modo risulta coinvolgente la nascita dei tartarughini, la loro corsa folle verso il mare come se un invisibile orologio segnasse inesorabilmente il tempo residuo per raggiungerlo, la naturalezza con cui questi neonati prendono contatto con la sua immensità, quasi fosse un “rientro” ancestrale nel ventre di una grande madre, una nascita a rovescio di cui sembrano già conoscere tutto.

Altrettanto formativo per un veterinario è il riscontro dei pericoli che si frappongono al completamento di questo ciclo biologico grandioso, la curiosità stupida dei bagnanti, la loro ignoranza che può avere effetti mortali su questi animali, la diabolica indifferenza con cui appoggiano i loro grassi sederi sulla sabbia senza minimamente curarsi del prodigio che si sta sviluppando pochi centimetri più sotto, l’irritante stupore con cui accolgono gli inviti a non accedere alle aree più frequentate dalle tartarughe o ad abbassare il volume delle loro assordanti radio “da spiaggia”: sono altrettanti spunti per una benefica meditazione di “medici degli animali” su quali siano i veri pericoli per il mondo animale, selvatico e domestico, e sulla necessità di una reale (quanto improbabile, almeno in tempi brevi !) presa di coscienza generale da parte della nostra presuntuosa specie di quanto poco meritiamo della natura che ci sta attorno.

#### *Esperienze cliniche*

La dott. Mavropoulou ha fatto parte anche della squadra dei volontari del Centro di Recupero delle Tartarughe Marine ad Atene, presso cui ha lavorato in periodi



Fig. 4 Tartaruga *Caretta caretta* con lesione traumatica molto profonda sulla testa.

diversi dell'anno 2000. In questo centro, fondato nel 1995, vengono ricoverate tartarughe con ogni tipo di problema sanitario provenienti da tutta la Grecia.

I compiti dei volontari consistono, innanzitutto, nel dare da mangiare agli animali, pulire e disinfettare le vasche che li ospitano. Le tartarughe vengono, inoltre, pulite con l'acqua dolce per sciacquare e rimuovere i depositi di sale che causerebbero infezioni e irritazioni cutanee e oculari e vengono loro somministrati farmaci, nonché praticate medicazioni di eventuali ferite o lesioni della pelle e degli annessi.

L'esperienza si è concretizzata anche nell'osservazione di singoli casi clinici, seguiti da un punto di vista sintomatologico e terapeutico.

Di seguito si descrivono proprio alcuni casi clinici documentati, anche sotto il profilo evolutivo e del follow-up.

#### Casi clinici

1) NOME: Lefteris

SPECIE: *Caretta caretta*

SESSO: Ignoto

LUOGO DEL RITROVAMENTO: Creta

DATA DEL RICOVERO: 7/6/1999

MOTIVO DEL RICOVERO: L'animale presentava la pinna craniale sinistra e quella caudale destra amputate, probabilmente a causa di un intrappolamento in filo da pesca.

MISURAZIONE AL MOMENTO DEL RICOVERO:

Lunghezza curva del carapace: 54 cm

Lunghezza lineare del carapace: 50 cm

Larghezza curva del carapace: 50,4 cm

Larghezza lineare del carapace: 42 cm

Peso: 13,25 kg

TERAPIE EFFETTUATE: Disinfezione dei monconi delle pinne con Betadine e trattamento antibiotico per os.

VALUTAZIONE FINALE: Giudicato non liberabile per l'incapacità di immergersi a causa delle pinne mancanti.

ESITO: Dopo 13 mesi di permanenza nel centro di recupero ad Atene l'animale viene ceduto allo zoo di Londra il 22/7/2000. Il suo peso al momento della partenza era di 17,6 kg.

2) NOME: Fotini

SPECIE: *Caretta caretta*

SESSO: Ignoto

MOTIVO DEL RICOVERO: La tartaruga presentava le pinne craniali amputate.

MISURAZIONI AL MOMENTO DEL RICOVERO:

Lunghezza curva del carapace: 38,5 cm

Lunghezza lineare del carapace: 36,25 cm

Larghezza curva del carapace: 33,75 cm

Larghezza lineare del carapace: 28,5 cm

Peso: 5,6 kg

**TERAPIE EFFETTUATE:**

E' stata trattata periodicamente con Baytril (Enrofloxacin) (5mg/kg) e Briklin (Amicacina solfato) (0,14 ml)

A scopo preventivo è stata trattata per i parassiti interni con Panacur (Fenbendazolo) e Droncit (Praziquantel)

E' stato somministrato Alimix (preparato vitaminico).

Disinfezione dei monconi delle pinne con Betadine

**VALUTAZIONE FINALE:** Non liberabile per l'assenza delle due pinne craniali. Questa situazione non le permette di risalire in superficie per respirare e quindi in mare annegherebbe.

**ESITO:** Dopo una permanenza di diversi mesi nel centro è stata trasportata allo zoo di Londra il 22/7/2000. Successivamente ha sviluppato un'osteomielite a carico della pinna caudale destra, probabilmente dovuta a un trauma del carapace che ha dato origine a un'inflammatione interna. L'animale è stato sottoposto ad eutanasia.

3) **NOME:** Adiopi

**SPECIE:** Caretta caretta

**SESSO:** Ignoto

**LUOGO DI RITROVAMENTO:** Xanthi (Nord della Grecia)

**DATA DEL RICOVERO:** 7/6/1999

**MOTIVO DEL RICOVERO:** E' stata ricoverata con traumi a carico della testa e del carapace. L'animale galleggiava e presentava impossibilità di immersione.

**MISURAZIONE AL MOMENTO DEL RICOVERO:**

Lunghezza curva del carapace: 67 cm

Lunghezza lineare del carapace: 62,6 cm

Lunghezza curva del carapace: 62,6 cm

Larghezza lineare del carapace: 52,2 cm

Peso: 29,2 kg

**TERAPIA EFFETTUATA:** Applicazione topica sulle lesioni di Terramicina (Ossitetraciclina) pomata e di Dactarin (Miconazolo nitrato) e somministrazione periodico per via sistemica di Baytril (Enrofloxacin) alla dose di 5 mg/kg.

**VALUTAZIONE FINALE:** A distanza di un anno tutte le lesioni si erano cicatrizzate ma l'impossibilità di immergersi è rimasta. E' stata, quindi, giudicata non liberabile.

**ESITO:** Trasportata il 22/7/2000 allo zoo di Londra. Il suo peso prima della partenza era di 45,2 kg

4) **NOME:** Oreste

**SPECIE:** Caretta caretta

**SESSO:** Ignoto

**LUOGO DEL RITROVAMENTO:** Patrasso

**DATA DEL RICOVERO:** 18/10/1999

**MOTIVO DEL RICOVERO:** Presentava una lesione traumatica a carico della testa e del carapace

**MISURAZIONI AL MOMENTO DEL RICOVERO:**

Lunghezza curva del carapace: 79 cm

Lunghezza lineare del carapace: 74,5 cm  
Larghezza curva del carapace: 67,5 cm  
Larghezza lineare del carapace: 55,2 cm  
Peso: 47,5 kg  
TERAPIA EFFETTUATA: Applicazione topica di Terramicina (Ossitetraciclina) pomata e somministrazione per via parenterale del Baytril (Enrofloxacin) alla dose di 5mg/kg  
VALUTAZIONE FINALE: Le due ferite si sono cicatrizzate completamente ed è stato giudicato liberabile.  
ESITO: Liberata il 31/7/2000 (Peso al momento della liberazione: 46 kg).

5) NOME: Margarita  
SPECIE: Caretta caretta  
SESSO: Ignoto  
LUOGO DI RITROVAMENTO: Evoia (Grecia centrale)  
DATA DEL RICOVERO: 22/8/1999  
MOTIVO DEL RICOVERO: Impossibilità di immergersi  
MISURAZIONI AL MOMENTO DEL RICOVERO:  
Lunghezza curva del carapace: 79,25 cm  
Lunghezza lineare del carapace: 74,3 cm  
Larghezza curva del carapace: 68,2 cm  
Larghezza lineare del carapace: 56,6 cm  
Peso: 51,7 kg  
TERAPIA EFFETTUATA: Somministrazione per via parenterale di 1,24 ml di Bricklin (Amicacina solfato) e, ogni 10 giorni, di vitamine (A,D,E, vitamine del gruppo B)  
VALUTAZIONE FINALE: E' stata giudicata liberabile dopo la ripresa delle immersioni  
ESITO: Liberata l'8/5/2000

6) NOME: Marco  
SPECIE: Caretta caretta  
SESSO: Ignoto  
DATA DEL RICOVERO: 20/2/2000  
MOTIVO DEL RICOVERO: Lesione traumatica sulla testa; lesioni erosive a carico del piastrone  
MISURAZIONI AL RICOVERO:  
Lunghezza curva del carapace: 68,4 cm  
Lunghezza lineare del carapace: 62,5 cm  
Larghezza curva del carapace: 61 cm  
Larghezza lineare del carapace: 49 cm  
Peso: 23,6 kg  
TERAPIA EFFETTUATA: Applicazione topica di Terramicina pomata sulla lesione cranica e di Betadine sulle erosioni del piastrone; somministrazione parenterale di Baytril (Enrofloxacin) alla dose di 5 mg/kg.  
VALUTAZIONE FINALE: Dopo la cicatrizzazione della lesione traumatica è stata

giudicata liberabile.

ESITO: Liberata il 10/9/2000.

7) NOME: Frodo

SPECIE: Caretta caretta

SESSO: Ignoto

DATA DEL RICOVERO: 17/6/2000

MOTIVO DEL RICOVERO: Lesione traumatica molto estesa sulla testa.

MISURAZIONI AL RICOVERO:

Lunghezza curva del carapace: 82 cm

Lunghezza lineare del carapace: 80 cm

Larghezza curva del carapace: 73,3 cm

Larghezza lineare del carapace: 61,5 cm

Peso: 52,5 kg

TERAPIA EFFETTUATA: Applicazione topica di Terramicina (Ossitetraciclina) pomata e somministrazione parenterale Baytril (Enrofloxacin) alla dose di 5 mg/kg.

VALUTAZIONE FINALE: Giudicato liberabile dopo la cicatrizzazione della lesione.

ESITO: Liberato il 13/11/2000

8) NOME: Orca

SPECIE: Caretta caretta

SESSO: Ignoto

DATA DEL RICOVERO: 7/7/2000

MOTIVO DEL RICOVERO: Lesione traumatica a carico della testa. Il trauma ha provocato alterazioni alla vista e alla respirazione, con turbe dell'equilibrio. All'esame clinico l'animale presentava dispnea e sintomatologia nervosa.

MISURAZIONI AL RICOVERO:

Lunghezza curva del carapace: 46,5 cm

Lunghezza lineare del carapace: 44 cm

Larghezza curva del carapace: 42 cm

Larghezza lineare del carapace: 38 cm

Peso: 9 kg

TERAPIA EFFETTUATA: Somministrazione periodica per via sistemica di Baytril (Enrofloxacin) alla dose di 5 mg/kg, di Desametasone, di vitamine (A,D,E,del complesso B) e di Fe.

VALUTAZIONE: Effettuata il 9/1/2001. Dopo una ripresa iniziale con inizio dell'alimentazione autonoma e aumento di peso di circa 2 kg (peso raggiunto: 11 kg), c'è stata una ricaduta con perdita di peso (fino a 8 kg)

ESITO: L'animale è morto in Febbraio 2001

9)NOME: Irini

SPECIE: Caretta caretta

SESSO: Ignoto

LUOGO DEL RITROVAMENTO: Nafplio (Peloponneso)

DATA DEL RICOVERO: 13/7/2000

**MOTIVO DEL RICOVERO:** Trauma cranico perioculare destro. Al momento del ricovero presentava anche una lesione cicatrizzata al carapace, probabilmente di origine traumatica.

**MISURAZIONE AL RICOVERO:**

Lunghezza curva del carapace: 70,5 cm

Lunghezza lineare del carapace: 64 cm

Larghezza curva del carapace: 65 cm

Larghezza lineare del carapace: 62 cm

Peso: 35,7 kg

**TERAPIA EFFETTUATA:**

Applicazione topica di Terramicina pomata e somministrazione per via sistemica di Baytril (Enrofloxacin) alla dose di 5 mg/kg.

Alimentazione forzata con l'uso di tubo gastroesofageo

**VALUTAZIONE:** L'occhio destro è stato salvato ma ci sono danni cranioencefalici: l'animale galleggia, è poco reattivo e non si alimenta autonomamente da mesi. Il suo peso attuale è di 35,8 kg

**ESITO:** Prognosi riservata

10) **NOME:** Morae

**SPECIE:** Caretta caretta

**SESSO:** Ignoto

**LUOGO DI RITROVAMENTO:** Rodi

**DATA DEL RICOVERO:** 18/6/2000

**MOTIVO DEL RICOVERO:** Lesione traumatica profonda a carico della testa, dermatite molto estesa a carico delle pinne craniali e del collo e infezione oculare che costringe l'animale a tenere l'occhio chiuso. All'esame clinico l'occhio si presenta gonfio, caldo e ricoperto da un panno biancastro.

**MISURAZIONI AL RICOVERO:**

Lunghezza curva del carapace: 69,6 cm

Lunghezza lineare del carapace: 69,1 cm

Larghezza curva del carapace: 66 cm

Larghezza lineare del carapace: 53,6 cm

Peso: 35,4 kg

**TERAPIA EFFETTUATA:**

Applicazione sulla lesione cranica di Terramicina (Ossitettraciclina) pomata

Applicazione di Daktarin (Miconazolo nitrato) sulle lesioni cutanee

Somministrazione per via sistemica a periodi di Baytril (Enrofloxacin) alla dose di 5 mg/kg, vitamine del gruppo B e di Ca

A livello oculare si applica un collirio a base di Gentamicina

**VALUTAZIONE:** Effettuata il 9/1/2001. La lesione traumatica si è cicatrizzata completamente e la dermatite si è risolta. L'animale ha cominciato ad alimentarsi autonomamente. Il suo peso è di 31,2 kg

**ESITO:** Favorevole.

11) **NOME:** Posidonas

**SPECIE:** Caretta caretta

SESSO: Ignoto

DATA DEL RICOVERO: 13/7/2000

MOTIVO DEL RICOVERO: L'animale si presentava debole, galleggiava ed era infestato da una grande carica ectoparassitaria.

MISURAZIONI AL RICOVERO:

Lunghezza curva del carapace: 79 cm

Lunghezza lineare del carapace: 74 cm

Larghezza curva del carapace: 74 cm

Larghezza lineare del carapace: 61 cm

Peso: 66 kg

TERAPIA EFFETTUATA: Somministrazione per via sistemica di Baytril (Enrofloxacin) periodicamente e alla dose di 5 mg/kg, di Panacur (Fenbendazolo) e di vitamine (A, D, E, complesso B).

VALUTAZIONE FINALE: Rapida ripresa (Peso finale 59,2 kg). Giudicato liberabile.

ESITO: Liberata il 16/8/2000

12) NOME: Igor

SPECIE: Caretta caretta

SESSO: Ignoto

DATA DEL RICOVERO: 30/6/2000

MOTIVO DEL RICOVERO: Lesione traumatica molto profonda sulla testa e pinna caudale destra parzialmente amputata.

MISURAZIONI AL RICOVERO:

Lunghezza curva del carapace: 84 cm

Lunghezza lineare del carapace: 80 cm

Larghezza curva del carapace: 74,5 cm

Larghezza lineare del carapace: 60 cm

Peso: 60 kg

TERAPIA EFFETTUATA: Somministrazione di Baytril (Enrofloxacin) alla dose di 5 mg/kg e a giorni alterni, di vitamine (A, D, E) e di Ca.

VALUTAZIONE FINALE: Rapida ripresa con cicatrizzazione delle lesioni; liberabile.

ESITO: Liberata il 1/11/2000

13) NOME: Pedra

SPECIE: Caretta caretta

SESSO: Ignoto

LUOGO DI RITROVAMENTO: Halkidiki (nord della Grecia)

DATA DEL RICOVERO: 10/7/2000

MOTIVO DEL RICOVERO: Lesioni sul cranio e sulla mascella dovute probabilmente a un amo entrato dalla bocca ed uscito dal collo.

MISURAZIONI AL RICOVERO:

Lunghezza curva del carapace: 25,5 cm

Lunghezza lineare del carapace: 23 cm

Larghezza curva del carapace: 23,5 cm

Larghezza lineare del carapace: 20 cm

Peso: 1,85 kg

TERAPIA EFFETTUATA: Somministrazione parenterale periodicamente di Baytril (Enrofloxacin) alla dose di 5 mg/kg, di Desametasone, di vitamine e di Ca.

VALUTAZIONE FINALE: Ripresa graduale e progressiva

ESITO: Liberata il 14/2/2000

14) NOME: Matilda

SPECIE: Caretta caretta

SESSO: Ignoto

LUOGO DI RITROVAMENTO: Platamonas (nord della Grecia)

DATA DEL RICOVERO: 2/10/1999

MOTIVO DEL RICOVERO: Lesione traumatica sulla testa provocata molto probabilmente da elica di natante; manca parte della mascella. Sul carapace è evidente una lesione in parte protrudente che impedisce l'immersione: l'animale nuota in posizione non orizzontale. Dermatite a carico del collo e del perineo.

MISURAZIONI AL RICOVERO:

Lunghezza curva del carapace: 73 cm

Lunghezza lineare del carapace: 71 cm

Larghezza curva del carapace: 70 cm

Larghezza lineare del carapace: 55,5 cm

Peso: 44,3 kg

TERAPIA EFFETTUATA:

Applicazione locale di Terramicina (Ossitetraciclina) pomata sulle lesioni traumatiche e di Dactarin (Miconazolo nitrato) sulle lesioni cutanee.

Somministrazione per via sistemica periodicamente di Baytril (Enrofloxacin), di Briklin (Amicacina solfato) e di vitamine (A, D, E, del complesso B).

Cura a scopo preventivo con Panacur (Fenbendazolo) per endoparassiti

VALUTAZIONE: Effettuata il 9/1/2001. Le lesioni traumatiche si sono completamente cicatrizzate. La cura per la dermatite continua poiché le lesioni sono ancora presenti. L'animale ha cominciato ad immergersi rimanendo per periodi di tempo limitati sul fondo. Il suo peso attuale è di 47,9 kg.

ESITO: liberata in Marzo 2001

15) NOME: Stefania

SPECIE: Chelonia mydas

SESSO: Ignoto

DATA DEL RICOVERO: 6/10/98

MOTIVO DEL RICOVERO: Lesione traumatica a carico della testa

MISURAZIONI AL RICOVERO:

Lunghezza curva del carapace: 30 cm

Lunghezza lineare del carapace: 28,2 cm

Larghezza curva del carapace: 27,5 cm

Larghezza lineare del carapace: 24,6 cm

Peso: 3,2 kg

TERAPIA EFFETTUATA: Applicazione topica di Terramicina (Ossitetraciclina)

sulla lesione cranica e somministrazione parenterale a periodi di Baytril (Enrofloxacin) alla dose di 5 mg/kg.

VALUTAZIONE FINALE: Giudicata sana ma non liberabile perché quasi completamente cieca.

ESITO: A fine agosto 2000 è stata portata all'acquario di Creta dopo più di 2 anni di permanenza nel centro di recupero di Atene (il suo peso era di 3,33 kg).

### *Considerazioni sulla casistica osservata e sull'esperienza compiuta ad Atene*

La partecipazione al gruppo di lavoro del Centro di Recupero di Atene è stata senz'altro positiva, anche se sono doverose alcune precisazioni di ordine clinico veterinario.

In effetti, la diagnostica e le terapie praticate durante il periodo considerato e riportate nella casistica qui descritta sono sembrate ad un laureato in medicina veterinaria, alquanto superficiali e approssimative, anche per l'assenza nel gruppo di lavoro e per periodi protratti di un veterinario a tempo pieno, dedicato alla cura degli animali ammalati. In realtà, nell'ultima fase di questa esperienza, è stato assunto un professionista veterinario e, di conseguenza, il livello dell'assistenza medica è migliorato.

La patologia osservata è soprattutto di origine traumatica, in parte per ferite da contatto violento con natanti o con attrezzature da pesca. Si tratta quasi sempre di lesioni relativamente gravi, più spesso alla testa e responsabili di turbe nervose con incapacità ad immergersi e a nuotare.

Non mancano complicazioni ectoparassitarie di diversa origine, ma sempre come espressioni secondarie di turbe trofiche della pelle conseguenti a grave compromissione dello stato generale degli animali.

Le lesioni traumatiche rilevate hanno presentato tempi di cicatrizzazione e di guarigione relativamente lunghi rispetto a quelli ritenuti normali per gli animali omeotermi. Questa rallentata evoluzione riparativa è solo in parte attribuibile alla già citata sommarietà delle terapie attuate, ma può essere associata al non completo o ritardato adattamento delle tartarughe allo stato di cattività e al conseguente stato di stress. Detta situazione, peraltro, non può essere al momento migliorata, anche perché gli ambienti che ospitano gli animali ammalati o feriti sono già abbastanza confortevoli compatibilmente con la disponibilità di spazio e di volume di acqua in detto Centro.

Si è trattato, in definitiva, di un'esperienza decisamente positiva sotto il profilo sia umano, sia professionale, soprattutto per la valorizzazione, anche in prospettiva futura, del ruolo decisivo che il veterinario potrebbe avere anche in questo tipo di attività.

### CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

Secondo la mitologia indiana, il destino del mondo è strettamente associato alla sopravvivenza della tartaruga marina. Un'antica leggenda racconta, infatti, che la terra è posizionata sulla schiena di tre elefanti, che a loro volta, poggiano sul dorso di una gigantesca tartaruga marina che nuota nel mare dell'infinito. Quindi, secondo

questa leggenda, se la tartaruga si estingue, la stessa fine farà il mondo, disperdendosi nel cosmo (Baterworth, 1997).

Anche sotto il profilo strettamente biologico, però, l'estinzione delle tartarughe marine si ripercuoterebbe sull'equilibrio dell'intero ecosistema e sarebbe comunque un segnale gravissimo e preoccupante dell'incapacità acquisita (per colpa dell'uomo!) di garantire dopo migliaia di anni la sopravvivenza di queste specie animali.

L'Italia e la Grecia, del resto, sono paesi la cui economia si basa prevalentemente sul turismo e non si possono permettere, quindi, di creare numerosi ed estesi parchi naturali dove sia proibita qualsiasi attività da parte dell'uomo, ma, come è dimostrato anche dalle osservazioni ed esperienze descritte nella presente nota, i biotopi delle tartarughe marine e il turismo possono coesistere se quest'ultimo viene progettato, realizzato e gestito in modo razionale (Arianoutsou, 1988).

Già la sensibilizzazione del pubblico verso i problemi ambientali riguardanti in modo specifico le tartarughe marine può risultare di grande utilità. La maggior parte delle persone, infatti, non distrugge la natura di proposito, ma solamente perché non è sufficientemente informata sull'argomento. Grandi speranze si nutrono in tal senso, dunque, a partire dall'educazione ambientale degli alunni di scuole elementari e medie, che sono stati realizzati in Grecia dando ottimi risultati (Kremezi, 1996).

Studi più approfonditi sulle patologie delle tartarughe marine potranno rivelare, inoltre, l'eziologia talvolta complessa di alcune di esse, permettendo anche di estendere l'applicazione delle conoscenze così acquisite ad altre specie marine e terrestri.

Il declino numerico delle tartarughe marine è in tutta evidenza un processo rapido ed è necessaria la reazione immediata delle organizzazioni competenti per cambiare questa situazione: diversamente, l'estinzione di alcune popolazioni o anche di intere specie marine è inevitabile. E poi, se avesse ragione la leggenda indiana?

## BIBLIOGRAFIA

1. ARIANOUTSOU M., (1988) "Assessing the Impacts of Human Activities on Nesting of Loggerhead Sea Turtles (*Caretta caretta* L.) on Zakynthos Island, Western Greece", *Environmental Conservation* 15, No 4, 327-334.
2. BATERWORTH K., (1997) "Turtle Tracks", 2a ed., Sea Turtle Protection Society, Athens.
3. DI BELLO A., DE GIOSA R., CROVACE A., (1994) "Chirurgia nelle tartarughe marine: Esofagotomia per l'estrazione di corpi estranei", *Obbiettivi e Documenti Veterinari*, No 1, 45-49.
4. FERRI V., (1999) "Tutto: Tartarughe e testuggini", 1a ed., Mondadori.
5. KREMEZI A., (1996) "From the beach to the classroom: an environmental educational program in Greece" in "Proceedings of the 15th annual Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation", February 1995, South Carolina, 157-159.
6. LUTCAVAGE E. M., PLOTKIN P., WINTHERINGTON B., LUTZ L. P., (1996) "Human Impacts on Sea Turtle Survival" in: Lutz L. P., Musick A. J. "The Biology of Sea Turtles", CRC Press, Boca-Raton, Fla.

7. MARGARITOULIS D., (1986) "Nesting activity of the loggerhead sea turtle", Ministry of the environment, Physical Planning and Public Works, PERPA.
8. MARGARITOULIS D., DIMOPOULOS D., (1994) "The loggerhead sea turtle *Caretta caretta* on Zakynthos. Population Status and Conservation Efforts during 1993", "Progress report (October 1992-December 1998) submitted to WWF Greece on project 0034.03", Athens.
9. MILLER D. J., (1996) "Reproduction In Sea Turtles" in: Lutz L. P., Musick A. J., "The biology of Sea Turtles", CRC Press, Boca-Raton, Fla.

## CAPTIVE BRED CHEETAH BEHAVIOUR

Bianco Federico<sup>1</sup>, Pier Giovanni Bracchi<sup>2</sup>

### *Introduction*

The cheetah (*Acinonyx jubatus* Schreber, 1776) is built for speed, with a deep chest, wasp waist, and proportionately longer limbs than the other big cats (Gonyea 1976). Average adult weight is 43 kg for males and 38 kg for females in the Serengeti (n= 17: Caro *et al* 1987). Flexion of the elongated spine has been measured as increasing, the cheetah's stride length by 11 % at speeds of 56 kph (Hildebrand 1959, 1961). The canines are small relative to other felids: a reduction in the size of roots of the upper canines allows a larger nasal aperture for increased air intake, which is critical for allowing the cheetah to recover from its sprint while it suffocates its prey (P. Leyhausen in Ewer 1973, Kingdon 1977). Its claws remain exposed, lacking the skin sheaths found in most other felids, and thus provide additional traction like a sprinter's cleats. The foot shows several other modifications: the digital pads and also the metacarpal pad are extremely hard and pointed at the front, possibly as an adaptation to sudden breaking, and the palmar pads bear a pair of longitudinal ridges instead of the more usual slight depressions-the functional equivalent of tire treads, serving as anti-skid devices (Pocock 1916, Ewer 1973). The prominent dew claws are used as hooks to trip up fast-running prey. The long tail helps the cheetah's balance as it swerves during a chase. Finally, the cheetah has enlarged bronchi, lungs, heart, and adrenals (Eaton 1974). According to K. Sevrin (pers. comm. in Eaton 1974: 24), a captive cheetah was accurately clocked at 112 kph over a short distance. In the wild, out of 78 chases measured and timed by G. Frame (Frame and Frame 1981: 181), the top speed was 87 kph. Antelopes, the main prey of cheetah, reach top speeds of 80-97 kph (Garland 1983), so peak speeds reached at some portion of a cheetah's sprint probably do exceed the oft-quoted, but seldom documented, 110 kph. Cheetah sprints rarely last longer than 200-300 m, while most antelope can run much further. Heat builds up rapidly during a sprint, and cheetahs have not evolved the evaporative heat release mechanisms of gazelles and goats, even though their energetic cost of running is equivalent (Taylor and Rowntree 1973, Taylor *et al.* 1974). Cheetahs are pale yellow with white underbellies, covered all over with small round black spots. They are readily distinguished from their spotted relatives by their "tear lines"-heavy black

---

<sup>1</sup> Medico Veterinario, dottorando in Endocrinologia degli Animali Domestici [vetfred@libero.it](mailto:vetfred@libero.it)

<sup>2</sup> Dipartimento Prod Anim. Biotec. Vet. Qual. Sic. Alim, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli studi di Parma

lines extending from the inner corner of each eye to the outer corner of the mouth. Both melanistic and albino cheetah specimens have been reported (Guggisberg 1975), and remarkably pale animals have been reported from desert regions (Draesco-Joffé 1993, P. Gros *in litt.* 1993). A more notorious single-locus genetic mutation (Van Aarde and Van Dyk 1986) produces the blotched tabby pattern of the so-called king cheetah, which was once classified as a separate species (Pocock 1927), and was the subject of a major investigative expedition (Bottriell 1987). This mutation has historically been recorded only from a restricted area in southern Africa centered on Zimbabwe (Hills and Smithers 1980), but there is a recent report of a single skin recovered in Burkina Faso, west Africa (Frame 1992).

A greater degree of sociality has been observed among cheetahs than for most felids, with the exception of the lion. Male and female littermates tend to stay together for about six months after independence (Caro 1994). Nearly two decades of intensive research in the Serengeti Plains have shown that. While females split off upon reaching sexual maturity, male littermates remain together in coalitions, and sometimes defend territories (Frame and Frame 1984, Caro and Collins 1986). These coalitions, particularly trios, that include unrelated males, with the frequency of this type of grouping estimated at 15% in the Serengeti (Caro and Collins 1986). Males in coalitions are more likely than solitary mates to gain and maintain territories; non-territorial males live a nomadic existence and wander widely (Caro and Collins 1986, 1987a). Territorial males were found to be in better physiological condition and appear to have better access to females during periods of gazelle concentration (Caro and Collins 1987b, Caro *et al.* 1989).

In east Africa, the cheetah's main prey is the Thomson's gazelle on the plains (Serengeti: Schaller 1968), and impala in the woodlands (Eaton 1974). In the arid bush land of northern Kenya, G. Adamson (in Hamilton 1986a) identified lesser kudu, gerenuk, and dikdik as major prey. In southern Africa, major prey consists of springbok. Data are scarce for central and west Africa, but cheetahs have been observed to take red hartebeest, oribi, and kob in ManovoGounda-St. Floris National Park in the Central African Republic (Ruggiero 1991). Cheetahs are also known to take smaller prey, particularly hares (Frame 1977, Labuschagne 1979, 1981), and male coalitions often take much larger prey, such as wildebeest (Dorst and Dandelot 1969, Eaton 1974, McVittie 1979, Caro and Laurenson 1990, Skinner and Smithers 1990).

### *Biology*

*Reproductive season:* (W) year-round, although birth peaks have been reported during the rainy season in the Serengeti (November-May: Frame 1977, Laurenson *et al.* 1992).

*Gestation:* (C) 90-98 days (Marker-Kraus 1992).

*Litter size:* (W) 4.2 (age 1-3 months) on Namibian ranch land (McVittie 1979); 3.5 (age 6-35 days; Laurenson *et al.* 1992) - 2.6 (age three months; Frame 1977) in the Serengeti; (C) 3.7 (Marker and O'Brien 1989), range 1-8 (Green 1991).

*Interbirth interval:* (W) 15-19 months (McLaughlin 1970, Schaller 1972). Females readily go into oestrus and conceive after losing a litter. Laurenson *et al.* (1992) found that the interval between the death of the previous litter and the next succes-

successful conception was longer for young (86.3 days, n=3) than adult females (17.8 days, n=9).

*Age at independence:* (W) mean 18 months (Laurenson et al. 1992), range 13-20 months (Frame 1984) (sub-adults leave mother); 17-27 months (females leave sibling groups: Frame 1980, Laurenson et al 1992).

*Age at first reproduction:* (W) females 24 (n=2: Schaller 1972) - 36 months (n=4: Laurenson et al. 1992); males 30-36 months (Caro 1991). (C) females 2-3 years (n=10); males 1-2 years (n=8) (McKeown 1992).

*Age at last reproduction:* (C) females 10 years; males up to 14 years (McKeown 1992).

*Sex ratio:* (W) cubs: 1 male:0.95 female (n= 1 17); adults and independent sub-adults: 1 male: 1.9 females (n= 169). This suggests differential male dispersal and mortality (Frame and Frame 1984), although males can be shyer than females and more difficult to observe (Caro and Collins 1986).

*Juvenile mortality:* (W) Other large carnivores, as well as baboons (L. Marker-Kraus *in litt.* 1993), are known to kill cheetah cubs.

*Longevity:* (W) 12-14 years (Frame and Frame 1980). However, Laurenson (in press) estimates the mean life expectancy of females reaching three years of age in the Serengeti at only an additional 3.9 years. Territorial males probably live longer, on average, than single males (Caro and Collins 1986, Caro et al. 1989). (C) average 10.5 and up to 21 years (L. Marker-Kraus *in litt.* 1993).

### *Habitat and Distribution*

Cheetahs are distributed primarily throughout the drier parts of sub-Saharan Africa (Fig. 3). They are not generally associated with forest habitats and are absent from the Sudano-Guinean forest savannah belt of west Africa (Myers 1975). However, although cheetahs are most frequently observed on open grassy plains (e.g. Schaller 1972, Mills and Biggs 1993), they also make extensive use of bush, scrub, and open woodlands (Myers 1975, Hamilton 1986a, Morsbach 1987). Observations by Eaton (1974) suggest that cheetahs expend more energy hunting in open country than in cover. A mosaic of woodland and grassland is probably preferred. Cheetahs are well-adapted to living in arid environments. They are not obligate drinkers and, in the Kalahari desert, have been estimated to travel an average of 82 km between drinks of water. They were observed to satisfy their moisture requirements by drinking the blood or urine of their prey, or by eating tsama melons (Labuschagne 1979, 1981).

### *Population Status*

Global: Category 3(A). Regional: Category 2(A). IUCN: Vulnerable. The total number of cheetahs in sub-Saharan Africa has been variously estimated at 15,000 (Myers 1975), 25,000 (Frame 1984), and 9,000-12,000 (Kraus and Marker-Kraus 1991), and a wide-ranging survey is in progress to develop a better grasp of the cheetah's current status (P. Gros, in prep.). The two largest metapopulations of cheetah are now believed to occur in east Africa (Kenya and Tanzania) and southern Africa

(Namibia, Botswana, Zimbabwe and Zambia) (Kraus and Marker-Kraus 1991, Gros 1990 and *in litt.* 1991).

Density and abundance vary widely according to environmental conditions, especially the occurrence of suitable prey and other large predators (Laurenson *in press*). In the Serengeti Plains ecosystem, cheetahs concentrate seasonally in association with migratory movements of Thomson's gazelle (Durant *et al.* 1988).

Estimating cheetah density is complicated by their unusual social organization. Both solitary male and female adults are semi-nomadic, having large, overlapping home ranges of the order of 800-1,500 km<sup>2</sup> (Frame 1980, Morsbach 1987, Caro 1994). Coalitions of males, on the other hand, have been found (in the Serengeti) to defend small territories of the order of 12-36 km<sup>2</sup>, but up to 150 km<sup>2</sup> (Bertram 1978, Frame 1980, Caro and Collins 1986). These territories periodically hold big numbers of Thomson's gazelle, the favoured prey of female cheetahs, and females were often observed in the males' territories (Caro and Coffins 1987b).

### *Protection Status*

CITES Appendix I. An Appendix 1 quota system was established under CITES in 1992 for live animals and trophies, with annual quotas allocated as follows: 150 (Namibia), 50 (Zimbabwe), 5 (Botswana). National legislation: fully protected over most of its range. Hunting prohibited: Angola, Benin, Botswana, Burkina Faso, Cameroon, Central African Republic, Ethiopia, Ghana, Kenya, Malawi, Mali, Mauritania, Mozambique, Namibia, Niger, Nigeria, Rwanda, Senegal, South Africa, Sudan, Tanzania, Togo, Uganda, Zaire. Trophy hunting permitted: Namibia, Zambia, Zimbabwe. No information: Chad, Sudan (IUCN Environmental Law Centre, 1986; Kraus and Marker-Kraus 1991).

### *Principal Threats*

*Genetic homogeneity:* Genetic research has demonstrated that both captive and free-ranging cheetahs exhibit a very high level of homogeneity in coding DNA, on compared par with inbred strains of laboratory mice (O'Brien *et al.* 1983, 1985, 1986, 1987a), the cheetah appears to have suffered a series of severe population bottlenecks in its history, with the first and most significant occurring possibly during the late Pleistocene extinctions, around 10,000 years ago (Menotti-Raymond and O'Brien 1993). The factors which would have led to these ancient population bottlenecks are not clear, but both their causes and consequences could be of significance to cheetah conservation today.

It has been argued that lack of genetic diversity may render the cheetah an exceptionally vulnerable species (O'Brien *et al.* 1983). Genetic variation is thought to be essential to the long-term adaptability and persistence of populations by providing sufficient genetic options on which natural extinction can operate in response to environmental change. The evidence for cheetahs being compromised by their genes arises mainly from captivity, where epidemics of infectious disease have occurred with high mortality (O'Brien *et al.* 1985, Evermann *et al.* 1988). Increased susceptibility to disease has been linked to genetic monomorphism (O'Brien and Evermann 1988).

Zoos have had difficulty in breeding cheetahs. Captive female cheetahs conceive infrequently, and when they do, cub mortality is relatively high (28-36%) (Marker and O'Brien 1989; Marker-Kraus and Grisham 1993), although these rates are similar to those of other felid and carnivore species kept in captivity (Loudon 1985). Finally, both wild and captive male cheetahs have high levels of abnormal sperm (71-76%: Wildt *et al.* 1987a), and success with *in vitro* fertilization using cheetah sperm is relatively low compared to other felid species (Donoghue *et al.* 1992).

*Vulnerability in Protected Areas:* Many observers have commented on the cheetah's vulnerability to interspecific competition with other large carnivores, and this is now the primary focus of the long-term cheetah study in the Serengeti (S. Durant, pers. comm. 1993). The chief mechanism by which more powerful carnivores—lions, leopards, and hyenas—limit cheetah abundance is by killing cheetah cubs (Laurenson *in press*), but these species, as well as (sometimes) jackals, baboons, and vultures, also drive adult cheetahs off their kills.

### *Aim of the project*

The project was born by chance because the birth of the eight cubs was unexpected as the husbandry Management at Marwell zoo was changed just one year earlier. In fact until 1998 the cheetahs kept at Marwell a male and a female used to be bred in the same enclosure that is now dedicated exclusively to the female. In fact most of European zoos have a unique enclosure where male and female are kept together and no significant differences concerning number of births were observed between those that kept the specimens together and those that split them. Just recently in the United States a particular management has been studied for cheetahs consisting in different enclosures of male and female located far from each other within the zoo. Just at the beginning of the mating season the male is approached to the female by 6 steps that prime him before mating and that has given very good results. Most of the time this schedule is unbearable in European zoos because of the economical impact this would have but similar techniques have been experimented in different zoos with contrasting results. The aim of my project was to evaluate the behavioural quality of both male and female in terms to establish whether the enclosure was correct or if behavioural enrichment was needed. Because of the chance to observe such a record birth most of the attention was focused on the relationship between mother and cubs also considering the differences between the in-situ behaviour recorded in literature. Unfortunately a reintroduction program is not likely to be carried out because of the TSE (transmissible spongiform encephalopathy) that is affecting cheetahs in British zoos because it would be a dangerous risk to spread this syndrome in the wild, for the same reason these animals cannot be exported to other foreign zoos to enrich the genomic status of the captive population.

The study on the male was led in order to put out some distress pattern.

### *Materials and Methods*

The collection of all the data available on the animals studied has been the first thing I did, then followed two days of pilot study that have been useful to draw the

enclosure and decide how to split them in zones to consider then general observation to pick up the behaviours to consider and the sampling method to use.

The specimens studied were:

**Sex:** female

**Birth:** 29 April 1992

**Place of birth:** Belfast

**Int. Studbook #:** 2703

**Reg. Studbook #:** 349

**Familiar name:** F21 Joolz

No births in Belfast

**26 Jan 1999**, Pretoria (male) access to Joolz

**23 April 1999**, Pretoria split from Joolz

**12 May 1999**, First day she went out to feed

**Sex:** male

**Date of birth:** 5 March 1990

**Place of birth:** Pretoria, South Africa

**Int. Studbook #:** 2355

**Reg. Studbook # :** —

**Familiare name:** M25 Pretoria

**13 November 1998**, donation from Pretoria to Whipsnade

**21 January 1999**, donation from Whipsnade to Marwell

**26 January 1999**, Pretoria with Joolz

**23 April 1999**, Pretoria split from Joolz

### **Cubs**

**Date of birth:** 10 May 1999

**Place of birth:** Marwell

4553 male, 4554 male, 4555 male, 4556 male, 4557 male,  
4558 female, 4559 female, 4586 female

The second step has been the study of the enclosure, to this purpose the enclosure has been brawn considering all the trees, bushes dens and plains to consider the different microhabitats available in it (see fig 1). The same has been done for the male with the only that the division of the area has been done exclusively on geometrical basis (see fig 2).

The third objective of the pilot study is to pick up the behavioural displays to observe and the sampling method to use

Sampling method picked up:

Female:

- sampling ad libitum
- 8.30 – 19.00
- one stop
- intervals 3 minutes
- total observation time: 85 h



Fig. 1 female enclosure

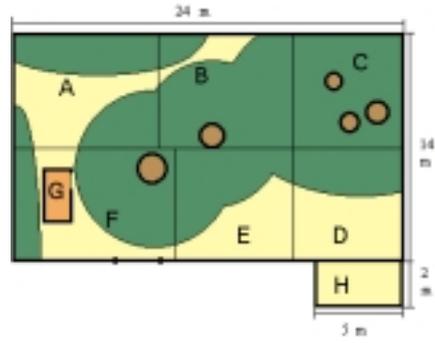


Fig. 2 male enclosure



Fig. 3 cub holding a tool in his mouth



Fig. 4 female nursing

### Cubs:

- sampling ad libitum
- 8.30 – 19.00
- one – zero
- intervals 3 minutes
- total observation time : 85 h

### Male:

- focal sampling
- 11.30 – 12.30 and 15.00 – 17.00
- one – zero
- intervals 5 minutes
- total observation time: 35h

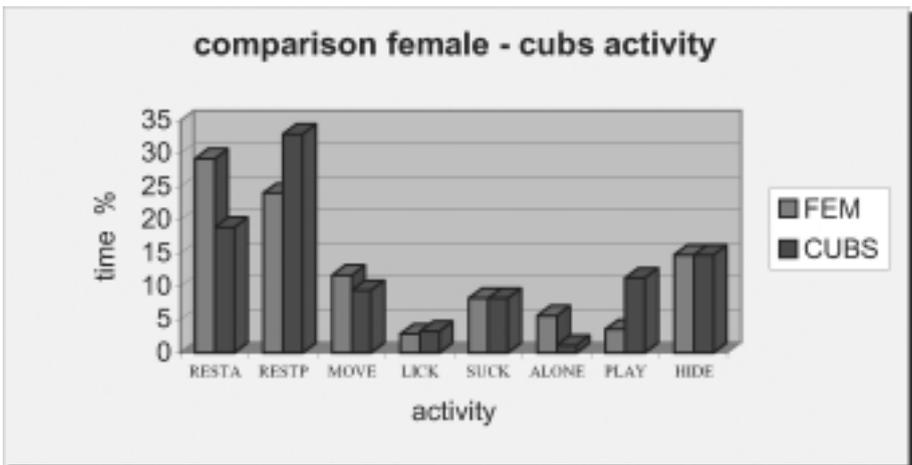
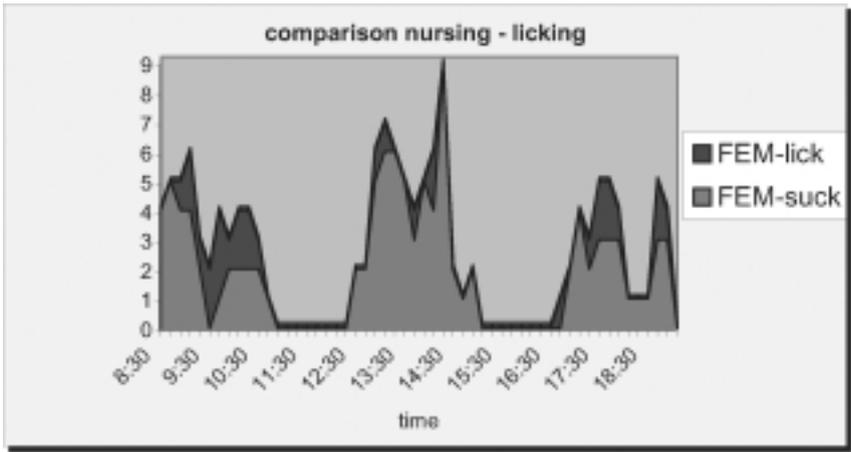
### *Discussion*

The data collected were transformed in to graphs thus to try and find out a pattern of the different behaviours through out the day. I considered separately the behaviour of the female then of the cubs the interactions between them. An important role in the behaviour is played by the enclosure and I carefully studied the way they used it. Another object of the study considered the way the cubs played.

The female appeared to be very attentive to all the cubs did even though for a high percentage of the day she isolated jumping on a den not giving attention to the cubs. That one was her first offspring but she had very good skills. The graphs show that all that her behaviour was always subordinated to the activity of the cubs passing from resting to immediate patrolling depended on what they did. On the other hand the activity of the cubs was very difficult do study for this reason I picked up a special way to observe them first of all the behaviours selected were the one observed in a specific moment using a one stop sampling method. As I had to observe eight cubs I used to put down on the paper what at least more then 3 cubs did in order to get good results. The cubs passed very rapidly from resting to playing and even playing with a very frenetic activity as long as the play took place it could stop very rapidly with a cascade effect starting from one cub involving then all of the others. I had the chance to observe a particular way to play displayed by a couple of cubs that used to pick up a piece of wood from the ground and use it as a tool while playing, activity never recorded before in literature (fig. 3). They spent a great part of the day nursing and in particular I found out that there were three period of the day dedicated to nursing (fig. 4). At the same time of nursing the cubs were licked by the mother, this activity very important in most of the felids, known as grooming, plays a role in strengthening the relationships between individuals but was seldom seen out of the time of nursing.

At the time of study the cubs were three months old and depended a lot on mother they used to spend most of the day at a short distance from the mother (1-5 meters) with a very low percentage of far distance (over 10 m).

Comparing the activity of the female and the cubs the only main difference detectable concerns the time spent resting or in activity, the first is much higher in the female compared to the cubs and vice versa.



The use of the enclosure was satisfactory using all the areas but one (for unknown reason may be they felt too exposed to the public put there. In the enclosure there were 4 dens available and I carried out nocturnal observations to find out which den they used at night and in fact the mother changed den every 3-4 nights, attitude displayed in nature in order to avoid the possible incursion of predators. During the observation periods we recorded a behaviour known in the wild but never seen in captivity known as Mobbing. The mobbing is displayed between cheetahs and prey species, the latter approach the cheetah and expose itself intimidating the predator as its main hunt strategy consists on the ambushment. The cheetah enclosure shared a part of the net with the sable antelopes one and the latter at eve used to get closed to the net and stare at the cheetahs that were always very scared of it and run away, in fact the cheetahs are among the big cats the most delicate and could be often killed by their prey species if they didn't surprise them in the chase.

The study carried out on the male showed that his enclosure was not adapt to his needings has he often displayed stereotyped movement like circling, back and forth and so on.

### *Conclusion*

In conclusion I can say that the behaviour of the female and the cubs appear to be very good, most of the time very similar to that of the wild cheetahs, and no particular changement in the enclosure is needed nor any behavioural enrichment. On the other hand that of the male is need to be improved either changing the enclosure or modifying the existing one adapting it to the needs of the animal.

**Key words:** cheetah, ex-situ conservation

**Parole chiave:** ghepardo, conservazione ex-situ

**Mots clé:** guépard, conservation ex-situ

**RIASSUNTO:** Il ghepardo è uno dei felidi più difficile da allevare in cattività. Ci sono tre teorie che tentano di spiegare le ragioni di questo insuccesso. La più accreditata vuole che il problema vada ricercato in una maggiore sensibilità agli stress manageriali. Per questo motivo molti zoo americani hanno sperimentato con successo una nuova tecnica di allevamento detta a sei stadi molto costosa e difficile da applicare per la maggiorparte degli zoo europei. Presso lo zoo di Marwell è stato applicato una adattamento di questa tecnica alle strutture già esistenti. L'esperienza ha avuto successo è nel 1999 si è assistito alla nascita di otto cuccioli. Lo scopo del mio studio era quello di stabilire in base ad uno studio sul comportamento della femmina dei cuccioli e del maschio se la tecnica di allevamento si adattasse bene a questo animale e se fosse possibile in qualche modo incrementare la qualità comportamentale dei soggetti. Mentre lo studio effettuato sulla femmina e sui cuccioli ha dimostrato un'ampia variabilità comportamentale ed un soddisfacente utilizzo del recinto, la situazione del maschio è ben diversa. Quest'ultimo manifestava infatti comportamenti stereotipati usando solo una minima parte del recinto a sua disposizione, per questo motivo è stato suggerito da cambiare recinto e di trasformare il preesistente adattandolo alle esigenze dell'animale.

**SUMMARY:** Cheetahs are known as the most difficult cat to breed in captivity. There are three theories as to the source of the cheetah breeding problem: 1) cheetah population had gone through a bottle neck period; 2) most of the male sperm are non functional; 3) low behaviour quality in captivity, it seems that males need to be primed for the mating. The aim of this project is to investigate the behaviour of mother and cubs and male in captivity to evaluate the quality of the husbandry (enclosure, different kind of play distance of the cubs from the mother, vocalisms, pattern of behaviour, similarity to in-situ behaviour). On 1999 eight cubs were born at Marwell zoo (England) after the husbandry of this species was reestablished an year earlier. The specimens studied were a female born 1992 and her eight cubs and the male born 1990 . The female enclosure was divided in eight zones considering the microhabitats available then the behavioural categories to observe were picked up. The male

enclosure was split up exclusively on geometrical basis. We used one stop intervals of three minutes for the female and zero one for intervals of three minutes for the cubs, with ad libitum observations from 8 a.m. till 7.30 p.m. reaching a total of 84 h. The male was observed for 35 hours with focal sampling two times a day. The new management adopted by Marwell zoo is an adaptation of the six steps husbandry developed in America that is most of the times impossible to realise in european zoos. This new technique lead to the birth of a record offspring and increased the behaviour of these animals using the same enclosure with minimal economical impact.

### *Bibliography*

1. Bottriell, L.G. 1987. King cheetah: the story of the quest. EJ Brill, Leiden.
2. Caro, T.M. 1994. Cheetahs of the Serengeti plains: group living in an asocial species. Univ. Chicago Press, Chicago.
3. Caro, T.M. e Collins, D.A. 1986. Male cheetahs of the Serengeti. Nat. Geog. Res. 2:75-86.
4. Caro, T.M. e Collins, D.A. 1987a. Male cheetah social organization and territoriality. Ethology 74:52-64.
5. Caro T. M. 1993, Behavioural Solutions to breeding cheetahs in captivity: insights from the wild. Zoo Biology 12: 19-30
6. Donaghue, A.M., Howard, J.G., Byers, A.P., Goodrowe, K.L., Bush, M., Blumer, E., Lukas, J., Stover, J., Snodgrass, K. and D.E. Wildt. 1992. Correlation of sperm viability with gamete interaction and fertilization in vitro in the cheetah (*Acinonyx jubatus*). Biol. Reprod. 46:1047-1056.
7. Dorst, J. and Dandelot, P. 1969. A field guide to the larger mammals of Africa. Collins, London.
8. Dragesco-Joffé, A. 1993. La Vie Sauvage au Sahara. [Wildlife in the Sahara]. Delachaux et Niestlé, Lausanne (Switzerland) and Paris (in French).
9. Durant, S.M., Caro, T.M., Collins, D.A., Alawi, R.M. and C.D. FitzGibbon. 1988. Migration patterns of Thomson's gazelles and cheetahs on the Serengeti Plains. Afr. J. Ecol. 26:257-268.
10. Eaton, R.L. 1974. The cheetah. Van Nostrand Reinhold, New York.
11. Evermann, J.F., Heeney, J.L., Roelke, M.E., McKeirnan, A.J. and S.J. O'Brien. 1988. Biological and pathological consequences of feline infectious peritonitis virus infection in the cheetah. Arch. Virol. 102:155-171.
12. Ewer, R.F. 1973. The carnivores. Cornell Univ. Press, Ithaca, New York.
13. Fitz Gibbon, C.D. 1990. Why do hunting cheetahs prefer male gazelles? Anim. Behav. 40:837-845.
14. Fleetwood AJ, Furley CW, 21 Aprile 1990, Vet Rec 126(16): 408-9
15. Frame, G.W. 1977. Cheetah ecology and behaviour. Pp 74-87 in the 1976-76 Annual Report, Serengeti Research Institute, Arusha.
16. Frame, G.W. 1980. Cheetah social organization in the Serengeti ecosystem, Tanzania. Paper presented at the Animal Behavior Society, Fort Collins, Colorado.

17. Frame, G.W. e Frame, L.H. 1984. Cheetah male cooperation: test of a mutualism model. Paper presented at Animal Behavior Society, Cheney, Washington.
18. Garland, T., Jr. 1983. The relation between maximal running speed and body mass in terrestrial mammals. *J. Zool., Lond.* 199:157-170.
19. Gonyea, W.J. 1976. Adaptive differences in the body proportions of large felids. *Acta. Anat.* 96:81-96. con
20. Goodrowe, Karen L. ; Crawshaw, Graham J. ; Mehren, Kay G., 1 Marzo 1991, Stimulation of ovarian activity and oocyte recovery in the caracal and the cheetah, *Journal of zoo and wildlife medicine*, pag 42
21. Graham, A. 1966. East African Wild Life Society cheetah survey: extracts from the report by wildlife services. *E. Afr. Wildl. J.* 4:50-55.
22. Gros, P. 1990. Global cheetah project Phase I: Cheetah status in southern Africa. Unpubl. report., Univ. of California, Davis.
23. Guggisberg, C.A.W. 1975. *Wild cats of the world.* David and Charles, London.
24. Hamilton, P.H. 1986a. Status of the cheetah in Kenya, with reference to sub-Saharan Africa. Pp 65-76 in Miller, S. and Everett, D., eds. *Cats of the world: Biology, conservation and management.* National Wildlife Federation, Washington D.C.
25. Hildebrand, M. 1961. Further studies on locomotion of the cheetah. *J. Mammal.* 42:84-91.
26. Hills, D.M. e Smithers, R.H.N. 1980. The “king cheetah”: a historical review. *Arnoldia* 9(1):1-23.
27. Howard, Jogayle; Donoghue, Ann M.; Barone, Mark A., 1 Settembre 1992, Succesfull induction of Ovarian Activity and Laparoscopic Intrauterine Artificial Insemination in the Cheetah, *Journal of zoo and wildlife medicine*, pag 288
28. IUCN Environmental Law Centre. 1986. *African wildlife laws.* IUCN Environmental Policy and Law Occasional Paper no. 3. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK.
29. Jeffrey M, Wells GA, Settembre 1998, *Vet Pathology*; 25(5): 398-9, Lasswade Veterinary Laboratory, Midlothian
30. King Simon 1 Gennaio 1998 Cheetahs and tourist cars – a recipe for disaster? Not necessarily, *BBC wildlife*
31. Kingdon, J. 1977. *East African mammals: An atlas of evolution in Africa*, Vol. 3(A). Carnivores. Academic Press, New York.
32. Kraus, D. and Marker-Kraus, L. 1991. The status of the cheetah (*Acinonyx jubatus*). Unpubl. data sheet, IUCN/SSC Cat Specialist Group, Bougy-Villars, Switzerland.
33. Labuschagne, W. 1979. [A bio-ecological and behavioural study of the cheetah, *Acinonyx jubatus jubatus* (Schreber, 1776).] M.S. thesis, Univ. Pretoria, Pretoria (in Afrikaans).
34. Labuschagne, W. 1981. Aspects of cheetah ecology in the Kalahari Gemsbok National Park. Paper presented at Internat. Union of the Directors of Zoological Gardens, Washington D.C.

35. Laurenson, M. Karen, 1995, Cub growth and maternal care in cheetahs, *Behavioural Ecology*, pag 405
36. Laurenson, M.K. 1992. Reproductive strategies in wild female cheetahs. Ph.D. thesis, Univ. of Cambridge, Cambridge.
37. Laurenson, M.K. 1993. Early maternal behaviour of wild cheetahs: implications for captive husbandry. *Zoo Biology* 12:31-43.
38. Laurenson, M.K., Caro, T. and M. Borner. 1992. Female cheetah reproduction. *Nat. Geog. Res.* 8(1):64-75.
39. Lindburg, D.G., Durrant, B.S., Millard, S.E. and J.E. Oosterhuis. 1993. Fertility assessment of cheetah males with poor quality semen. *Zoo Biology* 12(1):97-104.
40. Marker-Kraus, 1997, History of the cheetah *Acinonyx jubatus* in zoos 1829-1994, *International zoo yearbook* v35, 27
41. Marker-Kraus, L e Daniel Kraus, 1997, Conservation strategies for the long-term survival of the cheetah, *International zoo yearbook*
42. Marker-Kraus, L. and Kraus, D. 1991. 1991 Annual Report. Unpubl. report, Cheetah Conservation Fund, Windhoek.
43. Marker-Kraus, L. and Grisham, J. 1993. Captive breeding of cheetahs in North American zoos. *Zoo Biology* 12 (1): 5-18.
44. McKeown, S. 1992. Joint management of species cheetah breeding programme. Pp 78-88 in P. Mansard, ed. *Cats: proc. conference/workshop held at Chester Zoo on October 10, 1992 by the Ridgeway Trust for Endangered Cats and the Association of British Wild Animal Keepers*. Ridgeway Trust for Endangered Cats, Hastings, East Sussex.
45. McLaughlin, R. 1970. Aspects of the biology of cheetahs *Acinonyx jubatus* (Schreber) in Nairobi National Park. M.S. thesis, Univ. of Nairobi, Nairobi.
46. McVittie, R. 1979. Changes in the social behaviour of South-West African cheetah. *Madoqua* 2(3):171-184.
47. Menotti-Raymond, M. and O'Brien, S.J. 1993. Dating the genetic bottleneck of the African cheetah. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 90.
48. Mills, L. Scott, 1 Aprile 1996, Cheetah extinction: genetic or extrinsic factors?, *Conservation Biology* pag 315
49. Mills, M.G.L. 1990. *Kalahari hyaenas: the comparative behavioural ecology of two species*. Unwin Hyman, London.
50. Mills, M.G.L. e Biggs, H.C. 1993. Prey apportionment and related ecological relationships between large carnivores in Kruger National Park. In N. Dunstone and M.L. Gorman, eds. *Mammals as predators*. *Proc. Symp. Zool. Soc. Lond.* 65. Clarendon, Oxford.
51. Morsbach, D. 1984-1986. [The behavioural ecology and movement of cheetahs on farmland in Southwest Africa/Namibia.] Annual progress reports submitted to the Directorate of Nature Conservation and Recreation Resorts, Govt. of Namibia, Windhoek (in Afrikaans).

52. Myers, N. 1975. The cheetah *Acinonyx jubatus* in Africa. IUCN Monograph No. 4, Morges, Switzerland.
53. O'Donovan, Declan; Hindle, Joanne E.; O'Donovan, Sean, 1992, Effects of visitors on the behaviour of female cheetah and cubs, *International zoo yearbook* pag 238
54. Peet PL, Luglio 1992, *Aust Vet* 69(7): 171
55. Pocock, R.I. 1927. Description of a new species of cheetah (*Acinonyx*). *Proc. Zool. Soc. London Pt. 1*:245-251.
56. Rosevear, D.R. 1974. The carnivores of West Africa. British Museum (Natural History), London.
57. Ruggiero, R.G. 1991. Prey selection of the lion (*Panthera leo* L.) in the Manovo-Gounda-St. Floris National Park, Central African Republic. *Mammalia* 55:23-33.
58. Schaller, G.B. 1968. Hunting behaviour of the cheetah in the Serengeti National Park, Tanzania. *E. Afr. Wildl. J.* 6:95-100.
59. Schaller, G.B. 1972. The Serengeti lion. Univ. of Chicago Press, Chicago. *leosub jubsub parsub mgt res*
60. van Aarde, R.J. and van Dyk, A. 1986. Inheritance of the king coat colour patterns in cheetahs *Acinonyx jubatus*. *J. Zool.* 209:573-578.
61. van Dyk, A. 1991. The cheetahs of DeWildt. Stuik, Cape Town.
62. Wildt, D.E., O'Brien, S.J., Howard, J.G., Caro, T.M., Roelke, M.E., Brown, J.L. and M. Bush. 1987a. Similarity in ejaculate-endocrine characteristics in captive versus free-ranging cheetahs of two subspecies. *Biol. Reprod.* 36:351-360.
63. Wild, D.E.; Roth, Terry L.; Swanson, William F., 1 Marzo 1995, Enhancing Zona Penetration by Spermatozoa From a Teratosperimic Species, the Cheetah, *The journal of experimental zoology*, pag 323.
64. Wildt, David E.; Grisham Jack, 1993, Basic research and the cheetah SSP Program, *Zoo Biology* pag 3.

## **BLOOD BIOCHEMICAL BASELINE VALUES IN THE OSTRICH (*STRUTHIO CAMELUS*)**

Fausto Quintavalla<sup>1</sup> - Enrico Bigliardi<sup>2</sup> - Pierfrancesco Bertoni<sup>3</sup>

### *Introduction*

Ostrich breeding became popular in Italy towards the end of the '80s and has now become an important reality in Italian farming. Initially, ostrich breeding was a pioneer phenomenon, characterized by economic advantages with relatively low costs. New legislation regarding slaughter and increased interest by consumers has resulted in an ever-expanding number of breeding farms and animals.

Earnings at slaughter for 14-16 month-old ostriches is approximately 35%, 50% of which derives from ostrich skins. Ostrich meat is high in protein, low in fat and the taste is appreciated by consumers (Minelli et al.,1995).

There are numerous health problems in ostriches reared in captivity and include infectious diseases (viral, bacterial, micotic and parasitic) and non-infectious syndromes associated with husbandry, incubation, diet and metabolism (Catelli and Piazza, 1995; Shakespeare, 1995). Diseases associated with poor breeding and farming practices are quite common, due not only to the the environmental and dietary stress that these animals undergo, but also to the inexperience of many breeders. In fact, a recent survey has shown that 63% of ostrich breeders had no previous experience in animal rearing. Blood biochemistry is often the only means by which metabolic and nutritional problems can be diagnosed with certainty. Dietary deficiencies are common among the breed, due to errors in feed formulation, mixing and stocking (Tullio, 1998). Blood chemistry profiles are extremely important in the health management of this species (Tully and Shane, 1998). This work is aimed at determining baseline values for several parameters, based on age and egg deposition, in apparently healthy ostriches raised in Italy.

### *Materials and methods*

#### *Animals.*

Four hundred and six ostriches from different breeding farms were studied. Selected farms featured semi-intensive breeding practices with out-door paddocks. The number of reproducing females ranged from 3-15 for each farm. Ostriches were divided into five groups for the study, based on age and type of diet (see table 1). In

---

<sup>1</sup> Sezione Clinica Medica – Dipartimento Salute Animale - Università degli Studi di Parma - Italy

<sup>2</sup> Sezione Clinica Ostetrica – Dipartimento Salute Animale - Università degli Studi di Parma - Italy

<sup>3</sup> Libero professionista – Suzzara (Mantova)- Italy

TABLE 1: Groups of animals

GROUP	AGE (month)	SEX (n)
GROUP 1	3-12	male (16), female (22)
GROUP 2	12-24	male (18), female (16)
GROUP 3	24-36	male (6), female (14)
GROUP 4	36-48	male (55), female (51)
GROUP 5	all subject	male (105), female (103)

groups 1-4, animals received the same kind type of commercial feed in pellets, designed for ostriches, that was integrated with alfalfa (spring and summer) and with hay (fall-winter), administered *ad libitum*. Feed composition was different for different age groups: 1<sup>st</sup> period feed, until 30-40 days of age; 2<sup>nd</sup> period feed until egg deposition/slaughter; breeding feed for reproducing animals. Group 5 animals were fed a different commercial feed. Drinking water was administered *ad libitum*.

Animals either born in Italy or imported at least one year previously were included in the study. All animals were appeared in good health.

#### *Blood samples*

Blood was drawn from each animal from the wing vein with a 21G needle and a 5ml syringe. Animals had their heads covered in a woolen sock during sampling for ease of containment. Blood was placed in tubes with lithium heparin and kept refrigerated. In the laboratory, samples were centrifuged at 1600 g for 15 minutes and the resulting plasma was stocked at -20 until use.

#### *Profiles*

Plasma samples were evaluated for different biochemical values (see table 2). Values were obtained using an automatic photometer (Cobas Mirra plus - Roche, Milan), following the indications for each single kit (Linea Unirate-Roche Diagnostic System and Linea Centro-Roche Diagnostic System - Milan) at 25° C.

TABLE 2: Blood biochemical values

BIOCHEMICAL PARAMETERS	BIOCHEMICAL PARAMETERS
creatinine (CREA: mg/dl)	alkaline phosphate (ALP: U/l)
bood nitrogen (BUN: mg/dl)	lactate dehydrogenase (LDH: U/l)
uric acid (UA: mg/dl)	creatine kinase (CK: U/l)
total protein (PT: g/dl)	calcium (Ca: mg/dl)
albumin (ALB: g/dl)	inorganic phosphate (P: mg/dl)
total bilirubin (BIL. TOT.: mg/dl)	sodium (Na: mEq/l)
aspartate transaminase (AST/GOT: U/l)	potassium (K: mEq/l)
alanine transaminase (ALT/GPT: U/l)	chloride (Cl: mEq/l)
γ-glutamyltransferase (GGT: U/l)	

### Statistical analysis

Results were analyzed by ANOVA, according to the SAS method. Results are given as mean  $\pm$ SD. Student *t* was used to compare the mean data between sexes and among age groups.

### Results

The results of the parameters considered in the study are summarized in tables 3-7. For several parameters, values were from a single subject and therefore not included in the results. Hemolysis was observed in 5% of samples. Group 1 animals

TABLE 3: Blood biochemical values in Group 1

BIOCHEMICAL PARAMETERS	MALE Mean (std dev)	FEMALE Mean (std dev)
CREA	0,26 (0,35)	-
BUN	3,43 (1,49)	5,00 (0,00)
UA	8,83 (4,25)	10,47 (3,88)
PT	3,88 (1,47)	4,25 (1,15)
ALB	2,07 (0,72)	1,93 (0,97)
BIL. TOT.	0,31 (0,54)	0,28 (0,25)
AST/GOT	164,03 (45,79)	166,64 (44,71)
ALT/GPT	12,04 (8,31)	18,54 (5,51)
GGT	2,94 (2,51)	5,03 (0,54)
ALP	300,90 (188,88)	258,81 (104,05)
LDH	1095,71 (887,76)	1133,29 (391,41)
CK	1130,17 (755,37)	-
Ca	12,52 (2,59)	11,48 (4,25)
P	5,44 (1,69)	-
Na	99,94 (58,06)	-
K	4,30 (0,79)	-
Cl	71,86 (45,71)	-

showed significant differences between males and females for values of total bilirubin (prob>F'=0,0000), GPT (prob>F'=0,0185), GGT (prob>F'=0,0000), LDH (prob>F'=0,0000) and ALP (prob>F'=0,0000); Group 2 animals showed significant differences between sexes for PT (prob>F'=0,0004), total bilirubin (prob>F'=0,0000), and GOT (prob>F'=0,0000); Group 3 females had significantly higher values than males for PT (prob>F'=0,001) and total bilirubin (prob>F'=0,05), while males had higher values for Ca (prob>F'=0,001); Group 4 animals showed significant differences between males and females for PT (prob>F'=0,0001), total bilirubin (prob>F'=0,0567), and Ca (prob>F'=0,002); Group 5 animals showed significant differences between the sexes, that were not correlated to age or feed composition, for total bilirubin (prob>F'=0,0001), ALP (prob>F'=0,0001), Ca (prob>F'=0,0068) and K (prob>F'=0,0326).

TABLE 4: Blood biochemical values in Group 2

BIOCHEMICAL PARAMETERS	MALE mean (std dev)	FEMALE mean (std dev)
CREA	0,77 (0,81)	-
BUN	3,05 (1,99)	3,33 (2,88)
UA	8,08 (4,74)	7,68 (2,18)
PT	5,06 (0,63)	4,85 (1,87)
ALB	2,56 (1,00)	2,14 (1,33)
BIL. TOT.	0,26 (0,24)	0,22 (0,04)
AST/GOT	140,06 (22,16)	170,33 (99,89)
ALT/GPT	10,56 (4,45)	15,16 (6,17)
GGT	3,94 (1,97)	5,00 (0,00)
ALP	195,00 (81,50)	176,83 (67,67)
LDH	975,06 (378,11)	1004,33 (490,05)
CK	137,33 (36,82)	-
Ca	9,85 (3,39)	11,63 (3,95)
P	1,91 (1,35)	-
Na	0,30 (0,36)	-
K	-	-
Cl	6,60 (1,99)	-

TABLE 5: Blood biochemical values in Group 3

BIOCHEMICAL PARAMETERS	MALE mean (std dev)	FEMALE mean (std dev)
CREA	0,39 (0,31)	2,12 (0,25)
BUN	4,02 (4,25)	0,06 (0,03)
UA	10,48 (1,46)	4,74 (1,51)
PT	4,99 (0,46)	4,44 (0,37)
ALB	3,06 (0,67)	2,16 (0,26)
BIL. TOT.	0,18 (0,10)	0,62 (0,36)
AST/GOT	124,61 (21,75)	135,60 (42,71)
ALT/GPT	9,07 (4,59)	8,20 (1,78)
GGT	3,17 (2,00)	-
ALP	162,33 (92,10)	-
LDH	776,92 (236,12)	1394,60 (156,39)
CK	10,00 (2,82)	186,20 (116,99)
Ca	9,85 (4,10)	-
P	2,32 (1,03)	0,48 (0,13)
Na	0,25 (0,35)	0,44 (0,19)
K	0,54 (0,24)	-
Cl	-	4,42 (2,52)

TABLE 6: Blood biochemical values in Group 4

<b>BIOCHEMICAL PARAMETERS</b>	<b>MALE mean (std dev)</b>	<b>FEMALE mean (std dev)</b>
CREA	0,16 (0,03)	-
BUN	4,00 (1,38)	4,55 (0,90)
UA	6,47 (1,37)	7,17 (2,04)
PT	4,19 (2,15)	4,88 (0,48)
ALB	2,42 (1,25)	2,34 (0,85)
BIL. TOT.	0,33 (0,44)	0,40 (0,24)
AST/GOT	134,87 (52,25)	122,90 (36,34)
ALT/GPT	9,31 (4,31)	9,41 (2,53)
GGT	3,17 (2,53)	5,00 (0,00)
ALP	120,61 (65,67)	113,90 (47,78)
LDH	629,20 (348,09)	1047,17 (332,71)
CK	-	-
Ca	13,05 (1,43)	11,96 (4,91)
P	3,41 (0,84)	-
Na	-	-
K	-	-
Cl	-	-

TABLE 7: Blood biochemical values in Group 5

<b>BIOCHEMICAL PARAMETERS</b>	<b>MALE mean (std dev)</b>	<b>FEMALE mean (std dev)</b>
CREA	0,37 (0,51)	0,39 (0,47)
BUN	3,53 (1,49)	3,46 (1,52)
UA	8,67 (3,64)	8,16 (3,51)
PT	4,24 (1,57)	4,45 (1,36)
ALB	2,26 (0,86)	2,15 (0,98)
BIL. TOT.	0,31 (0,45)	0,27 (0,31)
AST/GOT	148,72 (45,04)	147,00 (48,33)
ALT/GPT	10,69 (6,70)	10,07 (7,26)
GGT	3,26 (2,40)	2,94 (2,32)
ALP	236,98 (163,37)	164,82 (94,84)
LDH	901,74 (424,10)	926,58 (407,82)
CK	874,53 (666,15)	986,57 (691,84)
Ca	11,92 (2,86)	14,90 (3,89)
P	4,20 (2,05)	4,76 (1,86)
Na	75,70 (64,95)	102,61 (60,35)
K	3,69 (1,69)	4,13 (2,24)
Cl	67,22 (46,84)	79,07 (43,83)

## *Discussion and conclusion*

Our results suggest the following considerations.

Creatinin, along with blood nitrogen, are excellent indicators of protein metabolism and kidney function. In our study, values for creatinin tend to increase until 24 months of age and then the trend is inversed. These results regard only males, in that the number of females examined was too low to give statistical value. Creatinin is abundant in muscular tissue and serum values can increase following physical exercise, such as that associated with capture of animals for blood sampling.

Blood nitrogen is associated with the urea present in peripheral blood and has been shown to be an indirect indicator of feed protein composition in farm animals (Ubaldi et al., 1982). Blood nitrogen values in male ostriches tended to remain constant throughout the study in the different groups. Females, on the other hand, had higher values at a young age that tended to decline with time; relative values, however, were constantly higher in females compared to males, except in group 3 where the number of animals did not consent this type of evaluation. In group 5, nitrogen levels were lower than those reported for other avian species like chickens and ducks (respectively 11.5 and 9.15) (Salzano and Russo, 1976).

Avian species are ureotelic and eliminate 60-80 % of nitrogen in the form of uric acid (Mushi et al., 2001). In our study, uric acid concentrations were significantly higher in females in group 1 compared to males. With age, these values tended to decline. Only in subjects between 36-48 months of age, an inversion is seen compared to males. Group 5 animals did not show differences between males and females (8,65 vs 8,16) for uric acid or for urea (3,5 vs 3,46). Uric acid serum levels change with protein content in feed, quantity of ingested feed and amino acid requirements for protein synthesis (Costa et al., 1993). It is also associated with water consumption and urine elimination. Indeed, values for serum uric acid decline in broiler chicks according to feed (Liu et al., 1999).

Total proteins (PT) play an important role in transport of vitamins, hormones, enzymes and electrolytes. In our study, PT values increased with age in males until 24-36 months when they began to decline. In females, PT values remain relatively constant. Low values for PT in the first 12 months of age can be associated with a high incidence of limb deformities and poor weight gain, given that in this phase, young birds require feed containing high concentrations of quality protein. These results, however, were not observed by us in this study. According to Mushi et al. (1999), ostrich chicks with limb deformities present high serum values for manganese and zinc compared to normal chicks. PT values also tend to increase with age in emus (Costa et al., 1993) and broilers (Selvaraj et al., 1998). In geese, PT values rise before egg deposition (Lazar et al., 1989). Our results are in contrast with those seen by Palomeque et al. (1991), where young ostriches showed low levels for hematocrit, hemoglobin, calcium and magnesium, and high levels of PT and potassium.

Serum albumins are also reflected by PT levels. Albumin in fact represents a large part of total proteins and its trend follows that of PT. Albumin levels generally tend to rise when the protein content in feed exceeds the animals' requirements. This would indicate, as has been suggested by Costa et al. (1993), that the protein content in the feed is more than adequate for the adults in this study.

Bilirubin derives from the breakdown of red blood cells in the spleen and is bound to albumin. In our study, values tended to decline during the first 24 months of age and then began to rise.

GGT is an indicator of primary or secondary hepatic pathology. Values remain relatively constant in our study, while ALT/GPT values are initially high in females from group 1 compared to males of the same group, as do the other hepatic enzymes. However, it is known that this enzyme is also present in muscular tissue (Ubaldi et al., 1982).

AST/GOT showed a similar trend to that of bilirubin. It is located in the cytoplasm and mitochondria and levels tend to rise with extensive destruction of hepatic tissue, therefore being an important diagnostic tool in hepatic, cardiologic and muscular disease. AST/GOT levels are higher in turkeys bred in tropical climates (Makinde and Fatunmbi, 1985). If we compare our results with those of other authors in tropical/sub-tropical conditions (Van Heerden et al., 1985; Okotie-Ebon et al., 1992; Costa et al., 1993), we may suggest the same is true for ostriches. On the other hand, chickens breeding in tropical conditions tends to more easily affect blood cell counts and enzymes (Oyewale, 1987).

Alcaline phosphatase (ALP) is present in nearly all tissues and organs, in particular liver and bone, where it is associated with osteoblastic processes. Values tend to fall progressively with age in both sexes. Values in group 1 were higher than the others, confirming that seen in growing children and young ostriches (Van heerden et al., 1985) and emus (Costa et al., 1993). Values then stabilize in adults. The high values in young animals is associated with osteoblastic processes rather than hepatic disease, as suggested by Costa et al. (1993). Males had consistently higher values for ALP compared to females, confirming that reported by Levy et al. (1989) in both ostriches and turkeys.

Lactate dehydrogenase (LDH) and creatine kinase (CK) are indicators of muscle damage, both scheletal and cardiac, and neoplasia. Both tend to decrease progressively with age in both sexes. Females from group 3 showed an increase in both values and may be due to stress during capture. CK values for ostriches are higher than those reported for other avian species (Levy et al., 1989).

Calcium levels remain constant in females and present higher levels compared to males only in group 2. The low levels, when compared to males, seen in group 4 females may be due to egg deposition and the wide range of values, as indicated by the standard deviation curves, are likely due to the differing thickness, porosity and weight of the shell that are associated with the period of egg production and genetic variations, as reported by Schiamone et al. (2000). In group 5, values are higher compared to the other groups and this would indicate the importance in nutritional composition. Actively breeding animals need a different type of feed than fattening subjects and they are normally fed a feed rich in fibre and calcium and low in protein and fat. Females produce an average of 100 eggs a year and the ostrich is an herbivore, similar to ruminants.

Data for phosphorus is available only for males. It is interesting to note the differences between the Ca:P ration in the groups 1-4: 2.34, 5.15, 4.25, 3.83. In group 5, Ca:P ratio in males is 2.84 compared to 3.13 in females. Ca:P ratio in group 1 is different from that reported in literature (Van Heerden et al., 1985; Levy et al., 1989;

Okotie-Eboh et al., 1992; Fezia et al., 1996). Ca levels are in fact higher than P and this can predispose subjects to lameness, especially in young birds, as reported by Chen et al. (1997).

Other electrolytes considered (Na, K, Cl) in the subjects in groups 1-4 are very low.

This study indicates that in all examined animals, levels of certain enzymes associated with muscle activity, like LDH, CK, GOT, ALT, were increased, particularly in animals from group 1. These values are not significantly different from those reported by other authors (Van Heerden et al., 1985; Levy et al., 1989; Okotie-Eboh et al., 1992; Fezia et al., 1996) and are likely due to muscular stress during capture and containment, especially in young animals that are not used to contact with humans, as suggested by Shao et al. (1999). Indeed, stress during capture can also contribute to sample hemolysis. Andreasen et al. (1997) have shown that hemolysis can later the values of several parameters, like AST, Ca and uric acid in ratites. However, when the results from group 5 are considered, this may have very little influence. Haemolysis occurred in a number of specimen was similar at Van Heerden et al. (1985) data.

If we consider the data obtained by us in animals with differing feed regimens and independently of age, we see that creatinin levels are slightly lower than those given by others. Values for BUN, on the other hand, are quite higher than those reported by Okotie-Eboh et al. (1992).

Serum levels of uric acid are lower in our female ostriches than that reported by Okotie-Eboh et al. (1992), while they are similar to those described by Tully and Shane (1998).

PT levels in our study are higher than those of Okotie-Eboh et al. (1992) and Tully and Shane (1998), as are albumin concentrations.

GGT values are inverted for sex-association compared to results given by Okotie-Eboh et al. (1992), with higher absolute values than those of other authors.

ALT/GPT values are much lower than values observed by Okotie-Eboh et al. (1992) ALP levels in males were almost twice as much as those seen by Okotie-Eboh et al. (1992), while values in females corresponded. We did not observe the high levels that have been reported by Van Heerden et al. (1985). AST/GOT was much lower than values of Okotie-Eboh et al. (1992) for both sexes, but close to ranges described by Tully and Shane (1998). CK values were lower than Okotie-Eboh et al. (1992), while LDH levels were decidedly higher. Calcium serum concentrations were slightly higher than values reported by Okotie-Eboh et al. (1992), Tully and Shane (1998) and by Bruning and Dolensek (1986). Inorganic phosphorous was similar in males and females, but lower than values by Okotie-Eboh et al. (1992).

In conclusion, clearly further study is needed to better characterize blood biochemistry profiles in the ostrich in order to furnish the practicing veterinarian the necessary instruments to diagnose and treat common diseases in these species.

### **Acknowledgments**

The authors wish to thank Laura Kramer for revision of the manuscript.

**Key words:** ostriches, biochemical values, blood, ratites

**Parole chiave:** struzzo, parametri ematochimici, sangue, ratiti

**SUMMARY** - Blood samples were collected from 406 ostriches (*Struthio camelus*) kept under semi-extensive conditions. Serum values of uric acid, total protein, albumin, urea, creatinine, creatine kinase, lactate dehydrogenase, aspartate amino transferase, alkaline phosphate, aspartate transaminase,  $\gamma$ -glutamyltransferase, total bilirubin, sodium, potassium, chloride, phosphorus, total calcium were measured.

**RIASSUNTO** - Sono stati esaminati complessivamente 406 struzzi appartenenti a diversi allevamenti italiani. La tipologia dell'allevamento era semi-intensivo in paddock. Gli struzzi sono stati suddivisi in cinque gruppi in base all'età e al tipo di alimentazione. Sono stati studiati i seguenti parametri ematochimici: acido urico, proteine totali, albumina, urea, creatinina, CK, LDH, GOT, GPT,  $\gamma$ -GT, fosfatasi alcalina, bilirubina totale, sodio, cloro, potassio, fosforo, calcio.

#### Reference

ANDREASEN C.B., ANDREASEN J.R., THOMAS J.S. (1997): Effects of hemolysis on serum chemistry analytes in ratites. *Veterinary Clinical Pathology* 26(4), 165-171

BROWN C.R., JONES G.E. (1996): Some blood chemical, electrolyte and mineral values from young ostriches. *Journal of the South African Veterinary Association* 67(3), 111-114

BRUNING D.F., DOLENSEK E.P. (1986): Ratites (*Struthioniformes*, *Casuariiformes*, *Rheiformes*, *Tinamiformes*, and *Apterygiformes*). In Fowler M.E.: *Zoo & Wild Animal Medicine*. Second Ed. W.B. Saunders Company – Philadelphia, 289

CHEN Y., HUANG Y.Q., LI H., LI H.Y., LIU Z.T., DENG H., HUG S.J., ZHAO H.Q. (1997): Study on phosphorus deficiency in young ostriches. *Chinese Journal of Veterinary Science and Technology* 27(2), 15-17

COSTA N.D., McDONALD D.E., SWAN R.A. (1993): Age-related changes in plasma biochemical values of farmed emus (*Dromaius novaehollandie*). *Australian Veterinary Journal* 70(9), 341-344

FEZIA G., DELLEPIANE M., GARIBALDI M. (1996): Contributo alla conoscenza di alcuni parametri ematici chimici ed elettrolitici in struzzi (*Struthio camelus*) allevati in Piemonte e Liguria. *Atti della Società Italiana delle Scienze Veterinarie*, L, 403-404

HEERDEN J. Van, DAUTH J., JARVIS M.J.F., KEFFEN R.H., DENNY J.E.F.M., DREYER M.J., KRIEK N.P.J. (1985): Blood chemical and electrolyte concentrations in the ostrich *Struthio camelus*. *Journal of the South African Veterinary Association* 56(2), 75-79

LAZAR V., BOUSKA J., STAVKOVA J., SOUTOROVA J. (1989): Physiological range of biochemical values of the blood plasma of geese. *Zivocisna Vyroba* 34(11), 973-980

- LEVY A., PERELMAN B., WANER T., GREVENBROEK M. Van, CREVELD C. Van, YAGIL R. (1989): Reference blood chemical values in ostriches (*Struthio camelus*). American Journal of Veterinary Research 50(9), 1548-1550
- LIEN T.F., LU J.J. (1994): The blood chemistry of ostriches fed in an artificial environment. Taiwan Journal of Veterinary Medicine and Animal Husbandry 63, 25-29
- MAKINDE M.O., FATUNMBI O.O. (1985): Some haematological and biochemical values of turkeys in Ibadan. Bulletin of Animal Health and Production in Africa. 33(3), 245-248
- MINELLI G., SANTORO P., LO FIEGO D.P., FAUCITANO L., MAZZONI D. (1995): Studio preliminare sulle caratteristiche della carne di struzzo (*Struthio camelus*). Atti della Società Italiana delle Scienze Veterinarie, XLIX, 1053-1054
- MUSHI E.Z., BINTA M.G., CHABO R.G., ISA J.F.W., PHUTI M.S. (1999): Limb deformities of farmed ostrich (*Struthio camelus*) chickens in Botswana. Tropical Animal Health and Production 31(6), 397-404
- MUSHI E.Z., BINTA M.G., ISA J.W. (2001): Biochemical composition of urine from farmed ostriches (*Struthio camelus*) in Botswana. Journal of the South African Veterinary Association 72(1), 46-48
- OKOTIE EBOH G., BAILEY C.A., HICKS K.D., KUBENDA L.F. (1992): Reference serum biochemical values for emus and ostriches. American Journal of Veterinary Research 53(10), 1765-1768
- OYEWALE J.O. (1987): Haematological and plasma biochemical values of two breeds of domestic fowls in a tropical environment. Animal Technology 38(1), 49-53
- PALOMEQUE J., PINTO D., VISCOR G. (1991): Hematologic and blood chemistry values of the Masai ostrich (*Struthio camelus*). Journal of Wildlife Diseases 27(1), 34-40
- QUAGLINO G., BERGERO D., ROMBOLI I. (1995): Organizzazione dell'allevamento dello struzzo in Italia. Atti della Società Italiana delle Scienze Veterinarie, XLIX, 1051-1052
- SALZANO G., RUSSO F. (1976): Su alcune grandezze ematochimiche nell'anatra domestica. Acta Med. Vet. 22, 19-22
- SCHIAVONE A., SALVATORE E., ROMBOLI I. (2000): Osservazioni sull'incubazione artificiale ed analisi della perdita di peso delle uova di struzzo (*Struthio camelus*). Annali della Facoltà di Medicina Veterinaria di Pisa – Edizioni Plus, vol. LIII, 102-106
- SELVARAJ P., THANGAVEL A., NANJAPPAN K. (1998): Plasma biochemical profile of broiler chickens. Indian Veterinary Journal 75(11), 1026-1027
- SHAO L.P., ZHANG L., WANG C.K., FEI Z.F., JIN T. (1999): Comparison of selected blood chemistry parameters in ostriches (*Struthio camelus*) of different ages. Chinese Journal of Veterinary Science 19(4), 397-398
- TULLIO D. (1998): Lo struzzo, malato molto esigente. Rivista di Avicoltura 12, 23-26

TULLY T.N., SHANE S.M. (1998): Ratites. The Veterinary Clinic of the North America: food animal practice. W.B. Saunders Company – Philadelphia

UBALDI A., CORBELLA E., MONTANARI P. (1982): Diagnostica chimico-clinica veterinaria. Casa Editrice Ambrosiana – Milano

## L'INDUZIONE E SINCRONIZZAZIONE DELL'ESTRO E DELL'OVULAZIONE NELLA BUFALA

Fabio De Rensis (DVM, MPh (UK), PhD (Canada))<sup>1</sup>

**RIASSUNTO** - La somministrazione di PGF2alfa nella bufala è in grado di indurre l'estro in una percentuale analoga a quella bovina con un intervallo trattamento-estro che va dai 2 ai 5 giorni. La percentuale di gravidanza si aggira sul 50% nella stagione riproduttiva, mentre scende notevolmente durante la stagione non riproduttiva (25%). Nella bufala il sistema ovosinc+TAI (GnRH seguito 7 giorni più tardi da PGF2alfa e quindi inseminazione dopo rilevamento dell'estro o mediante inseminazione eseguita senza rilevamento dell'estro dopo una seconda somministrazione di GnRH) porta ad una percentuale di animali trattati che rimangono gravidi del 30-40% durante la stagione riproduttiva; tali risultati calano significativamente durante la stagione non riproduttiva (10%). Nella bufala l'utilizzo di progestinici in combinazione con l'estradiolo benzoato o valeriato, il PMSG o le PGF è un sistema in grado di indurre una percentuale di gravidanza del 30-40%, nella stagione riproduttiva mentre durante la stagione non riproduttiva tali valori sono significativamente inferiori (20-30%). In conclusione, l'efficacia dei diversi sistemi di induzione e sincronizzazione dell'estro e ovulazione nella bufala è comparabile a quella della bovina da latte durante la stagione riproduttiva ma è molto inferiore durante quella non riproduttiva

**ABSTRACT** - The administration of PGF2alfa in buffalo induce oestrus in about 50% of treated animals with an interval treatment oestrus of 2-5 days. The pregnancy rate is significantly reduced during not reproductive season. The ovosinc+TAI system (based on the administration of GnRH (day 0) followed PGF (day 7) and GnRH (day 9) plus AI 16 hours later) induce a pregnancy rate of 30-40% during reproductive season. The efficacy of treatments is very low when the treatments are carried out during the non reproductive season. The efficacy of the utilization of oestradiol benzoate, or PMSG or PGF2afa in adjunct to progesterone during the reproductive season is similar to that one detectable in bovine (40% of PR). However the pregnancy rate generally decrease below 30% during not reproductive season.

### *Introduzione*

Negli ultimi anni l'utilizzo di nuove tecnologie riguardanti la riproduzione degli animali domestici ha permesso un importante miglioramento nelle produzioni ani-

---

<sup>1</sup> Dipartimento di salute animale, Facoltà di Medicina Veterinaria, Via Del Taglio 8, 43100, Parma, Italy, tel 0039.0521.902659, Fax 0039.0521.902662. e-mail fabio.derensis@unipr.it

mali. Nella specie bufalina ci sono però ancora poche informazioni sulla sincronizzazione e induzione dell'estro e dell'ovulazione, in parte anche per le ancora scarse conoscenze della fisiologia dello sviluppo follicolare soprattutto durante la stagione non riproduttiva, in parte perché questi animali sono più diffusi in zone del mondo dove le disponibilità economiche per l'utilizzo delle più recenti tecnologie sono limitate.

In Italia l'allevamento bufalino è diffuso soprattutto nel Centro-Sud ma negli ultimi anni la consistenza di questa specie nella pianura padana è andata aumentando (Bertoni et al 2001) sia per una maggior diffusione del consumo di mozzarella di bufala, sia per un concomitante restringimento del comparto della bovina da latte. Purtroppo a causa soprattutto dell'anestro (o subestro) stagionale rimane una specie che non ha delle performaces produttive e riproduttive molto soddisfacenti. Per questo motivo sarebbe auspicabile la messa a punto di sistemi di induzione e sincronizzazione dell'ovulazione che permettano di raggiungere livelli di fertilità analoghi a quelli presenti durante la stagione riproduttiva. Nel proseguio di questo lavoro saranno descritti alcuni dei dati più recenti riguardanti la sincronizzazione e l'induzione dell'estro e dell'ovulazione nella specie bufalina.

#### *La fisiologia del ciclo estrale nella bufala*

La lunghezza del ciclo estrale nella bufala è in media di 20-22 giorni (Dannel et al., 1987; Kanai et al., 1987) con delle variazioni che vanno dai 18 ai 26 giorni. La durata del calore varia tra le 12 e le 30 ore e l'ovulazione può presentarsi 11-17 ore (Kanai et al., 1987) o 15-18 ore (Raut et al., 1990) dopo la fine del calore. Le manifestazioni estrali nella bufala sono molto meno evidenti rispetto alla bovina: la percentuale di bufale in estro che ha manifestazioni omosessuali è estremamente bassa (Vale et al., 1990). Sintomi quali edematosità della vulva, scolo vaginale ed aumento dell'urinazione non sono molto significativi per il rilevamento dell'estro. Il metodo più efficace è l'utilizzo di un maschio vasectomizzato e dotato di rilevatore di monta e/o il rilevamento visivo effettuato due volte al giorno (Alonso et al., 1992) da effettuarsi preferibilmente nelle prime ore della mattina e della sera (Nguyen, comunicazione personale). Proprio a causa di questa difficoltà del rilevamento dell'estro nella bufala, appare particolarmente importante la messa a punto di un sistema di sincronizzazione ed induzione dell'estro per poter utilizzare la fecondazione artificiale.

#### *L'induzione e la sincronizzazione dell'ovulazione mediante l'utilizzo di progesterone, gonadotropine e prostaglandine*

L'efficienza riproduttiva nella bufala, soprattutto nel periodo estivo, è generalmente bassa. Una delle principali cause è una diminuita attività dell'asse ipotalamico-ipofisario e la presenza di estri silenti o poco evidenti (Singh et al., 2000). Per questo motivi sono stati effettuati diversi studi per indurre e sincronizzare gli estri in questa specie. Alcuni sistemi si basano sulla somministrazione di progestinici (con o senza PMSG, estradiolo) o/e prostaglandine (Rao et al., 1979; 1985;1989; Singh et al., 1983; Saini et al., 1986, 1988; Chohan et al., 1995; Uoc et al., 1997; Rentfrow et al., 1997; Kamonpatana et al., 1987; Dhaliwal et al., 1990; 1987; Sahasrabudhe et al.,

1997). L'utilizzo di progestinici e /o prostaglandine generalmente è in grado di indurre l'estro nel 30-50% (vedi Tab 1) degli animali trattati con un percentuale di gravidanze (animali trattati che sono rimasti gravidi) intorno al 30%. Ad ogni modo esiste una grossa variabilità nei risultati dovuta diversi fattori (nutrizionali, stagionali, di management etc) per cui, ad esempio, in alcuni recenti lavori (Hattab et al., 2000; Baruselli 2001) il trattamento con progestinici (CRESTAR o CIDR-B) è risultato poco efficace come sistema di sincronizzazione degli estri nella bufala. A questo proposito nella specie bovina è stato osservato che i progestinici di sintesi sono meno

TAB. 1 percentuali di estro e gravidanze in bufale trattate con diversi sistemi di sincronizzazione

Trattamento	Stadio riproduttivo	Paese	estro (E) ovulazione (O)	Tasso di gravidanza	Bibliografia
PGF (1 o 2 somm) Day 11 del ciclo estrale	Sett-Febbraio	Pakistan 61	85% (E)	30/60 (50%)	Chohan (1998)
"	Marzo-Agosto	76	57-83%* (E)	47/76 (25%)	"
PGF (1 somm im o ivsm)	Cicliche (Nov- Aprile)	India 16	68%* (E)	7/16 (44%)	Gupta et al., (2001)
Controlli		79	89% (E)	50/76 (66%)	"
PGF		India 24	79% (E)		Subramaniam et al., (1989)
PGF	Subestro	India 40	31% (E)		Pant et al., (1991)
PMSG	Non ciclanti	Pakistan 7	100%	42%	Khan et al., (1995)
controlli	Non ciclanti	7	42%	14%	
PMSG +PGF	Anaestro	India 10	60% (E)	5/10(50%)	Thakur et al., (1992)
	Controlli	10	30% (E)	2/10 (20%)	
Progesterone+OEB	Giugno-Sett	200	75%	25.3%	Rao et al., (1983)
	Ottobre.-Genn	150	93%	40.7%	
CRESTAR (10 gg) (+PMSG)	Sett-Dic. Ciclanti	Egitto 10	10%(E)**	14%	Hattab et al., (2000)
Norgestomet+PMSG			53%	20%	Rao et al., 1985
Norgestomet+PMSG +PGF			68%	42%	Rao et al., 1985
CIDR-B + PGF		Brasile 15	60% (O)		Baruselli (2001)
PRID+PMSG+TAI	Febbr-Aprile	Italia 187+337		26%	Zicarelli et al., (1997)
PRID+PMSG	Stag. non riprod. Manze	14		42%	Saini et al., (1988)
PRID+PMSG+TAI	Marzo-Giuugno	Italia 79 manze		35%	Barile et al (2001)
PRID+PMSG+TAI	Maggio-Giugno	Italia 62		21-34%	Barile et al (1997)
CRESTAR		Brasile	6.7% (O)		Baruselli (2001)
GnRH+PGF+GnRH+F A (ovosinc+TAI)	Stag. riprod.	Brasile 472	90% (O)	(48.8%)	Baruselli (2001)
GnRH+PGF+GnRH+F A (ocvosinc+TAI)	Stag. non riprod.	Brasile ?		6.9%	Baruselli (2001)

\*dipende dalla dose o dal sito di inoculazione

\*\* animali in estro entro 7 giorni dopo la rimozione dell'impianto progestinico

efficaci del progesterone nel controllare lo sviluppo follicolare (Sanchez et al 1995., Kojima et al., 1992) ed il trattamento con il PRID può inibire la produzione di progesterone endogeno riducendo gli effetti luteotropici dell'LH (Robinson et al., 1989).

### *Nuove tecnologie basate sul controllo dello sviluppo follicolare durante il ciclo estrale*

L'utilizzo del progesterone o delle prostaglandine permette di controllare l'ovulazione ma non lo sviluppo follicolare per cui quest'ultimo può diventare un fattore limitante per un preciso controllo dell'ovulazione. Per questo motivo nella bovina da latte recentemente sono stati messi a punto diversi sistemi per il controllo dello sviluppo follicolare (De Rensis et al., 1999). Queste metodiche si basano sull'utilizzazione combinata di GnRH, che modula lo sviluppo follicolare, e di PGF2alfa che controlla la luteolisi (sistema ovosinc o GPG). Infatti il GnRH, che può essere somministrato in qualsiasi giorno del ciclo, induce ovulazione e/o luteinizzazione del follicolo dominante presente. A questo segue lo sviluppo di una nuova ondata follicolare dalla quale poi emergerà un nuovo follicolo dominante. La somministrazione di PGF2alfa, effettuata 6-7 giorni dopo la somministrazione di GnRH, causa la luteolisi di tutte le strutture luteiniche presenti e permette quindi a questo nuovo follicolo dominante di accrescersi. Somministrando, 48-50 ore più tardi, ancora del GnRH o dell'hCG si provoca l'ovulazione di questo follicolo dominante e si può quindi effettuare l'inseminazione artificiale 16-18h più tardi anche senza rilevamento dell'estro. Questo tipo di protocollo è stato recentemente utilizzato nella bufala da Baruselli (2001) (Tab 1); se il trattamento viene effettuato durante la stagione riproduttiva si raggiunge una percentuale di gravidanze comparabile a quella segnalata nella specie bovina (40%), mentre se viene effettuato durante la stagione non riproduttiva le percentuali di gravidanze sono inferiori al 10%. Questo lavoro ed altri dimostrano che l'efficacia dei sistemi di sincronizzazione nella bufala può essere fortemente influenzata dalla stagionalità.

### *Conclusioni*

La somministrazione di PGF2alfa nella bufala è in grado di indurre l'estro in una percentuale analoga a quella bovina con un intervallo trattamento-estro che va dai 2 ai 5 giorni. La percentuale di animali trattati che sono rimasti gravidi si aggira sul 50% nella stagione riproduttiva, mentre scende notevolmente durante la stagione non riproduttiva (25%)

Nella bovina il sistema ovosinc con rilevamento dell'estro porta ad una percentuale di gravidanze del 50%, mentre con inseminazione eseguita senza rilevamento del calore (timed artificial insemination, TAI) porta ad una percentuali di animali gravidi del 30-40%, durante la stagione riproduttiva ma percentuali molto inferiori in quella non riproduttiva.

La somministrazione di PMSG +PGF può essere utilizzata per ripristinare un'attività ciclica in animali in subestro o anestro stagionale. Gli studi a questo riguardo, sia nella specie bufalina che quella bovina, sono ancora insufficienti per stabilirne l'efficacia.

Nella bovina l'utilizzo di progestinici in combinazione con l'estradiolo benzoato, il PMSG o le PGF è un sistema in grado di indurre estro nell'80% degli animali (intervallo fine trattamento-estro 36-60 ore) con una percentuale di bovine trattate che è rimasta gravida dopo il trattamento del 50%. Nella bufala i risultati durante la stagione riproduttiva sono leggermente inferiori a quelli osservabili nella specie bovina (PR 40%), sono significativamente inferiori durante la stagione non riproduttiva (PR 25%).

### *Bibliografia*

Alonso JC., Campo E., Gil A., Caral J., (1992). Evaluation of three methods of oestrus detection in water buffaloes. *Revista de Salud Animal* 14:215-216.

Barile VL, Galasso A, Marchiori E, Pacelli C, Montemurro N, Borghese A (2001) Effect of PRID treatment on conception rate in mediterranean buffalo heifers. *Livestock Production Science* 68:283-287.

Barile VL, Galasso A, Marchiori E, Borghese A (1997) Effect of PRID treatment on oestrus synchronization and progesterone levels in Italian Buffaloes. In: *Proc V World Buffalo Congress, Caserta, Italy, 732-737.*

Bertoni G., Piccioli Capelli F., Carli D (2001). L'allevamento bufalino nel nord Italia. *Atti 1 Congr. All. del bufalo, eboli (SA) ; 20-27.*

Baruselli PS (2001). Control of follicular development applied to reproduction biotechnologies in buffalo. *Atti 1 congresso Nazionale Allevamento Bufalo, (Italy)* 128-146.

Chohan, K.R., Iqbal, J., Choudhary, R.A. and Khan, A.H., 1995. Oestrous response and fertility in true anoestrus buffaloes following hormonal treatment during summer. *Pakistan Vet. J.* 15, pp. 68

Dhaliwal G.S., Sharma, R.D. and Biswas, R.K., 1987. Comparative fertility in buffaloes with observed and timed insemination using two routes of PGF2alpha administration. *Vet. Rec.* 121, pp. 475-476.

Dhaliwal G.S. and Sharma, R.D., 1990. Serum progesterone profiles in buffaloes following two routes of PGF2-alpha administration. *Indian J. Anim. Sci.* 60, pp. 967-968

De Rensis, F., Allegri, M., Seidel, G.E. Jr (1999). Estrus synchronization and fertility in post-partum dairy cattle after administration of human chorionic gonadotropin (hCG) and prostaglandin PGF2alpha analog. *Theriogenology*, 52:259-269

De Rensis, F., Peter, A., (1999). The control of follicular dynamics by PGF2alpha, GnRH, hCG and estrus synchronization in cattle. *Reproduction in Domestic Animals*, 34:49-59

De Rensis F., Marconi P., Capelli T., Gatti F., Facciolongo F., Franzini S., Scaramuzzi RJ. (2002). Fertility in post-partum dairy cows in winter or summer following estrus synchronization and fixed time A.I. after the induction of an LH surge with Gonadotropin releasing hormone (GnRH) or human chorionic gonadotropin (hCG). *Theriogenology*, in press

Gupta KA, Purohit GN (2001) Use of vaginal electrical resistance (VER) to predict

estrus and ovarian activity, its relationship with plasma progesterone and its use for insemination in buffaloes. *Theriogenology* 56:235-245.

Hattab SA, Kadoom AK, Palma R, Bamberg E (2000) Effect of Crestar on estrus synchronization and the relationship between fecal and plasma concentrations of progestagens in buffalo cows. *Theriogenology* 54:1007-1027.

Kanai Y., Shimizu H (1986) Changes in plasma concentrations of luteinizing hormone, progesterone and oestradiol-17 $\beta$  during the periovulatory period in cyclic swamp buffaloes (*Bubalus bubalis*). *Animal Reproduction Science* 11:17-24.

Khan AH, Chohan KR, Chaudhry RA, Naz NA (1995). Comparison of two different doses of PMSG for oestrus induction in non cycling buffalo heifers. *Pakistan Veterinary Journal* 15:34-76.

Kamompatana M., Pansin, C., Srisakwattana, K., Paranpai, R.V., Sophon, S., Sravasi, S., Tasripu, K. and Doenghana, N., 1987. *Buffalo J. Suppl.* 1, pp. 1-22.

Kojima N, Stumpf TT, Cupp AS, Werth LA, Roberson MS, Wolfe MW, Kittok RJ, Kinder JE (1992). Exogenous progesterone and progestins as used in estrous synchrony regimens do not mimic the corpus luteum regulation of luteinizing hormone and 17 $\beta$ -estradiol in circulation of cow. *Bio Repr* 47:1009-1017

Pant HC, Singh BP (1991). Application of prostaglandin F $_2$  (PGF $_2$ ) in the treatment of sub-oestrus in buffaloes. *Indian J Anim Repr* 12:55-57.

Raut NV., Kadu MS (1990) Observation on ovulation and its association with fertility in Berari (Nagpuri) buffaloes. *Indian Veterinary Journal* 67:130-1332

Rao A.R. and Rao, S.V., 1979. Synchronisation of oestrus in buffaloes with norgestomet. *Vet. Rec.* 105, p. 256

Rao A.V.N. and Venkatramaiah, P., 1989. Luteolytic effect of a low dose of cloprostenol monitored by changes in vaginal resistance in suboestrous buffaloes. *Anim. Reprod. Sci.* 21, pp. 149-152

Rao A.V.N., Sreemannarayana, O. and Rao, K.P., 1985. Oestrous response and fertility in post-partum anoestrous buffaloes treated with a progestagen, pregnant mares' serum gonadotrophin and prostaglandin during the low breeding season. *Anim. Reprod. Sci.* 8, pp. 129-135.

Rentfrow LR, Randel RD, Neuendorff DA (1997). Effect of estrus synchronization with syncro-Mate B on serum luteinizing hormone, progesterone and conception rate in Brahman heifers. *Theriogenology* 28:355-362

Robison NA, Leslie KE, Walton JS (1989) Effect of treatment with progesterone on pregnancy rate and plasma concentrations of progesterone in holstein cows. *J Dairy Sci* 72:201-207

Sahasrabudhe S.A. and Pandit, R.K., 1997. PGF $_2$  induced oestrus in suboestrous Murrah buffaloes during summer. *Indian J. Anim.Sci.* 67, pp. 513-514.

Saini MS, Galhotra MM, Kaker ML, Razdan MN (1986). Induction of estrous and ovulation in non-cyclic buffalo (*Bubalus Bubalis*) heifers with progesterone-releasing intravaginal device and pregnant mare serum gonadotrophin and their gonadotrophin profile. *Theriogenology* 26:749-755

- Saini MS, Galhotra MM, Sangwan ML, Razdan MM, (1988). Use of PRID in inducing estrus and its effect on the sexual behaviour of Muttah buffalo heifers. *Indian J Dairy Sci* 41:40-42
- Sanchez T, Wehrman ME, Kojma FN, Cupp AS, Bergfeld EG, Peters KE, Mariscal V, Kittik RJ, Kinder JE (1995) Dosage of the syntetic progestin, Norgestomet, influences luteinizing hormone pulse frequency and endogenous secretion of 17beta-estradiol in heifers. *Biol Repr* 52:464-469.
- Singh GB, Dugwekar RD, Chauhan FS, Sing M (1979) treatment of subestrus buffaloes with prostaglandin F2I<sub>fa</sub>. *Vet Rec* 104:412-413.
- Singh G, Sing GB, Sharma RD, Nanda AS (1983) Experimental treatment of summer anestrous buffaloes with norgestomet and PRID. *Theriogenology* 19:323-329.
- Singh, J., Nanda AS., Adams GP (2000) The reproductive pattern and efficiency of female bugffaloes. *Anim. Repr Sci.*, 60-61:593-604.
- Subramanian A, Sundarsingh JSD, Devarajan KP (1989) Estrus synchronization with PGF2alpha in buffaloes. *Indian Veterinary Jornal*, 66:538-540.
- Thakur MS, Gour AK, Jainn A (1992) Fertility following induction and synchronization of estrus with gonadotrophins and luteolysis in Murrah buffaloes. *Indian Veterinary Journal*, 69:364-365.
- Uoc NT, Long DD, van Ty L, Chuopin D, Renard JP, Nguyen BX (1997). Effect of oestradiol- 17beta and hCG supplementation on superovulatory responses and embryo quality in swamp buffalo (*Bubalus bubalis*) implanted with nogestomet. *Anim Reprod Sci* 47:181-187.
- Zicarelli L, De filippo C, Francillo M, Pacelli C, Villa E (1997). Influence of insemination tecnique and ovulation time on fertility percentage in synchronized buffaloes. In: *Proc V World Buffalo Congress, Caserta, Italy, 732-737.*

## SESSAGGIO EMBRIONALE NELLA SPECIE BOVINA MEDIANTE PCR E SUCCESSIVO CONGELAMENTO E TRAPIANTO: RISULTATI PRELIMINARI.

Ambrosi V., Morini G., Parmigiani E., Bigliardi E.

### *Premessa*

Nel campo delle biotecnologie della riproduzione il sessaggio degli embrioni bovini riveste un ruolo di grande interesse per le varie applicazioni che questa tecnica trova in campo zootecnico.

Infatti è possibile conoscere il sesso dell'embrione, con una accuratezza prossima al 100% (Bredbacka P. et al.,1995), già all'età di 7 giorni mediante la tecnica della PCR (*Polymerase Chain Reaction*) seguita dalla migrazione elettroforetica su gel di agarosio.

Come è noto il moderno allevamento bovino improntato sulla produzione di latte ha come obiettivo una produzione di vitelli di sesso femminile tra i quali scegliere i soggetti migliori per la propria rimonta; in questo contesto la nascita di vitelli maschi di razze ad elevata attitudine lattifera non è certamente auspicabile.

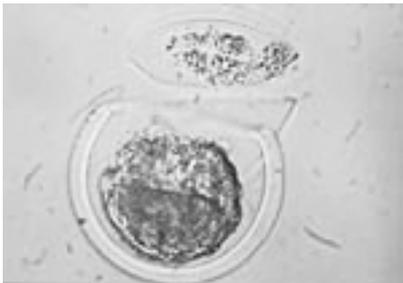
Inoltre consente di ottenere vitelli del genotipo prescelto e quindi di diminuire gli intervalli generazionali ed i costi per l'incremento genetico; trova anche applicazione nella prevenzione di malattie legate al sesso.

Questa tecnica, che trova il suo impiego in caso di *embryo transfer* e nella produzione in vitro di embrioni, permette l'impegno nella gestazione dei soli animali che hanno ricevuto gli embrioni del sesso desiderato lasciando così a disposizione dell'allevatore un numero maggiore di animali da ingravidare mediante fecondazione artificiale o come riceventi di altri embrioni.

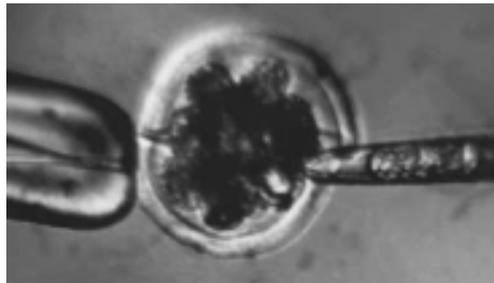
In passato sono stati numerosi i tentativi di mettere a punto tecniche di biopsia affidabili che al tempo stesso associassero caratteristiche di praticità e scarsa invasività e tra queste le più diffuse sono la tecnica di sezione con microbisturi (*Foto 1*) e quella mediante microaspirazione (*Foto 2*) (Chrenek et al.,2001).

Tra le due la seconda è quella sicuramente meno invasiva (asportazione di 1 blastomero) e data la piccola apertura effettuata nella zona pellucida è maggiormente compatibile con le tecniche di congelamento standard; la seconda asporta un numero di blastomeri superiore (4-8) e prevede la perdita della zona pellucida ma consente di effettuare la biopsia in tempi più brevi ed a costi inferiori, l'efficienza della diagnosi è superiore grazie al numero di blastomeri prelevati e presenta la caratteristica di essere agevolmente applicabile in campo, dal momento che il micromanipolatore ha dimensioni ridotte e quindi facile da trasportare (*Foto 3 e 4*).

L'asportazione di un numero limitato di blastomeri è una condizione auspicabile per salvaguardare le future capacità di sviluppo dell'embrione, così come la rapidità nell'effettuare la biopsia per ridurre al minimo i tempi di contatto tra embrione e medium; in questo modo si evitano stress che potrebbero essere fatali al successivo sviluppo dell'embrione.



*Foto 1: biopsia embrionale effettuata mediante microbisturi. In questo caso l'embrione si trova allo stadio di blastocisti ed i blastomeri provengono dal solo trofoblasto.*



*Foto 2: biopsia effettuata mediante aspirazione su un embrione allo stadio di morula (in questo caso precoce).*



*Foto 3: micromanipolatore per biopsia mediante microbisturi.*



*Foto 4: micromanipolatre per biopsia mediante aspirazione.*

Con un procedimento molto simile alla sezione della biopsia è anche possibile ottenere gemelli omozigoti a partire da un unico embrione (*splitting*) nell'ottica di una ottimizzazione dei trapianti embrionali; inoltre è pure possibile associare le due tecniche con risultati apprezzabili (Bredbacka P. et al., 1994).

Per quanto riguarda l'individuazione del cromosoma Y sono stati sperimentati diversi metodi come l'utilizzo di anticorpi per la ricerca di specifici antigeni maschili, il cariotipo, l'individuazione di differenze metaboliche tra embrioni maschi e femmine (Shea B.F., 1999) e più recentemente l'analisi del DNA. È proprio quest'ultimo tipo di analisi, in particolare la reazione di polimerizzazione a catena (PCR), l'unico metodo che fino ad oggi garantisce un saggio affidabile e tempi di applicazione ridotti, compatibili con il trapianto dell'embrione fresco o il suo congelamento.

### *Materiali e metodi*

#### 1. CARATTERISTICHE DEGLI EMBRIONI

Per convenzione internazionale l'espianto embrionale si effettua il 7° giorno dopo la fecondazione, quando gli embrioni vanno dallo stadio di morula a quello di

blastocisti espanse; ognuno di questi stadi di sviluppo è compatibile con il sessaggio.

Un'altra condizione essenziale è che gli embrioni siano di prima qualità perché diversamente mal sopporterebbero lo stress della biopsia (Bredbacka P. et al.,1994).

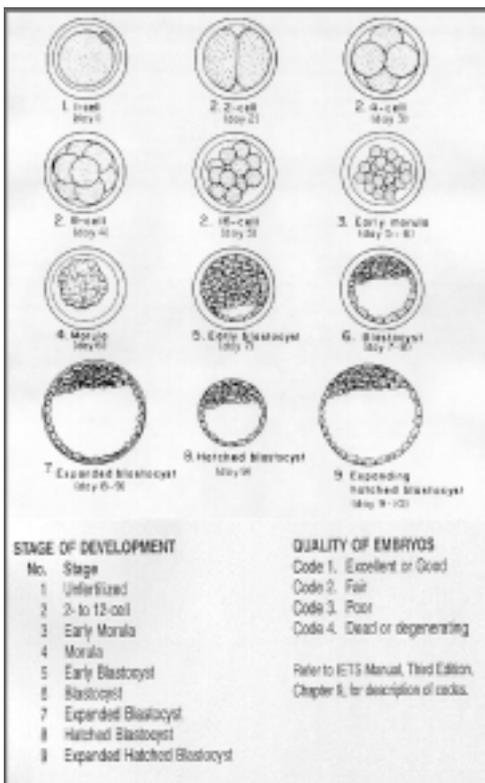
Gli Autori hanno sessato e congelato 126 embrioni di cui 36 erano allo stadio di morula, 23 allo stadio di blastocisti iniziali, 42 blastocisti e 25 blastocisti espanse (Tab. 1), classificate secondo le direttive I.E.T.S. (*International Emryo Transfer Society*) (Fig. 1).

Ad oggi 42 di questi sono stati trapiantati.

Tab.1: numero e qualità degli embrioni sottoposti a sessaggio.

Stadio di sviluppo	Totale	Qualità 1 n° (%)	Qualità 2 n° (%)	Qualità 3 n° (%)
<b>Morule (4)</b>	36	27 (75)	7 (19,4)	2 (5,5)
<b>Blastocisti iniziali (5)</b>	23	15 (65,2)	6 (26)	2 (8,6)
<b>Blastocisti (6)</b>	42	32 (76,2)	6 (14,2)	4 (9,5)
<b>Blastocisti espanse (7)</b>	25	25 (100)	-	-

Fig. 1: Classificazione degli embrioni bovini secondo le direttive I.E.T.S. (il primo numero è indicativo dello stadio di sviluppo).



## 2. CARATTERISTICHE DEI MATERIALI

Le piastre sulle quali si effettua la biopsia sono costituite da polistirene che, essendo caricato positivamente, favorisce l'attrazione elettrostatica tra il fondo e l'embrione, che in questo modo vi può aderire senza scivolare sotto l'azione della lama.

Gli embrioni, dopo la ricerca nel liquido di lavaggio filtrato e la loro selezione, sostano in una soluzione chiamata *holding* nella quale possono restare alcune ore ad una temperatura compresa tra i 15 e 25 °C; essa consiste in DMPBS (*Dulbecco Modified Phosphate Buffered Saline*), e contiene, tra gli altri, anche sali di calcio e magnesio, sodio piruvato ed antibiotici, quali penicillina e streptomina.

La biopsia è stata effettuata mediante microsezione in microgocce da 50 µl su piastre da 60 mm previo attento assetto del microbisturi; le microgocce sono costituite essenzialmente da un medium, che chiameremo *splitting medium*, a base di DMPBS ulteriormente modificata. Una caratteristica fondamentale è che deve essere priva di proteine in modo da favorire l'adesione dell'embrione al fondo della piastra e contenere piccole quantità di sali di calcio e magnesio per favorire la separazione dei blastomeri sotto la pressione della lama. Dal momento che non si tratta di una soluzione ideale per l'embrione, il tempo di contatto con questa soluzione, compreso risciacquo e biopsia, non deve superare i 15 minuti; infatti subito dopo aver effettuato la sezione si preleva l'embrione, ormai privo di zona pellucida, e lo si sposta nell'*holding*.

Anche i blastomeri vengono separati dalla zona pellucida (essa potrebbe alterare i risultati nel caso in cui fossero presenti sulla sua superficie frammenti di DNA maschile provenienti dagli spermatozoi) e spostati nel *tube DNA-free* da PCR.

Per poter prelevare dalla microgoccia le poche cellule della biopsia che per effetto dell'attrazione con la piastra aderiscono immediatamente sul fondo di questa, è necessario utilizzare un altro tipo di soluzione, per brevità chiamata *retrieval medium*, che neutralizza le cariche elettrostatiche; anch'essa tra l'altro è priva di proteine che potrebbero contaminare la biopsia con DNA estraneo, ha la stessa densità dello *splitting medium* e contiene polivinilalcol (PVA) come surfattante.

È assolutamente necessario sostituire il puntale ad ogni biopsia e lavare la lama del microbisturi in etanolo al 70% per evitare contaminazioni, che si rivelano essere uno dei maggiori problemi da affrontare con questa metodica.

La biopsia deve asportare al massimo il 10% delle cellule dell'embrione; nel caso di una blastocisti esse devono assolutamente provenire dal trofoblasto in modo da lasciare intatto il bottone embrionale. Il blastocite collassato si riformerà in poche ore (Herr C.M. et al., 1991).

Nel caso in cui si volesse associare lo *splitting* al sessaggio, è consigliabile dividere l'embrione in modo da ottenere una porzione di dimensioni maggiori dalla quale poi asportare le cellule necessarie per la biopsia (Bredbacka P. et al., 1994).

## 3. AMPLIFICAZIONE DEL DNA

Limitatamente alle fasi di amplificazione del DNA e della migrazione elettroforetica su gel di agarosio, il procedimento richiede circa 1 ora e 30 minuti, suddivisi in 65 minuti per la PCR ed altri 20 minuti per la migrazione elettroforetica; il ciclatore e la strumentazione per effettuare l'elettroforesi devono essere nettamente separati dalla stanza in cui si effettua la biopsia per evitare che in questa si accumulino

elevate concentrazioni di DNA amplificato che è frequentemente causa di contaminazioni (Herr C.M. et al., 1991).

I maggiori problemi da affrontare sono quelli dovuti all'accidentale contaminazione del campione con DNA esogeno, proveniente da spermatozoi adesi alla membrana pellucida o da embrioni precedentemente micromanipolati; un altro problema è la perdita della biopsia durante il passaggio nel *tube* poiché costituita da poche cellule che possono aderire al puntale oppure alla parete del *tube*.

Inoltre talvolta possiamo incorrere in reazioni la cui lettura è di difficile interpretazione, nel senso che la banda specifica che indica la presenza del cromosoma Y è molto debole o poco definita e non permette di fare una diagnosi certa.

#### 4. MIX DI REAZIONE

Il mix di reazione è una soluzione costituita dai *primers* (AB Technology – Washington, USA), dai desossinucleotidi trifosfati, dall'enzima *Taq* DNA Polimerasi e da una soluzione tampone.

I *primers* riconoscono sequenze specifiche del DNA e si legano ad esse indicando il punto dal quale l'enzima *Taq* DNA Polimerasi dovrà iniziare l'amplificazione; più in particolare essi sono oligonucleotidi specifici orientati in modo che la sintesi della catena bersaglio proceda nella regione compresa tra i due *primers* con andamento antiparallelo.

Sono presenti due *primers* che riconoscono sequenze caratteristiche del DNA bovino maschile ed altri due *primers* che riconoscono le sequenze del DNA autosomico bovino.

L'enzima *Taq* DNA Polimerasi, purificato ed isolato da un batterio termofilo, il *Thermus aquaticus*, ha l'importante caratteristica di esercitare la propria azione solo ad alte temperature, tra 70 e 80°C, e per tempi limitati.

Il DNA è reso disponibile all'attacco dei *primers* grazie alla rottura delle membrane dei blastomeri in seguito al congelamento dei campioni immersi direttamente in azoto liquido.

Previa denaturazione del DNA alla temperatura di 95°C, i *primers* affiancano la sequenza bersaglio da amplificare alla temperatura di 64°C e forniscono l'ossidrilico 3' di innesco dal quale, alla temperatura di 72°C, l'enzima *Taq* DNA Polimerasi inizierà l'attività di estensione.

Ogni ciclo si compone quindi di tre temperature:

Temperatura di denaturazione: 95°C;

Temperatura di ibridazione: 64°C;

Temperatura di estensione: 72°C.

Il ciclo viene ripetuto 33 volte ed il risultato è un accumulo esponenziale del frammento bersaglio.

Il ciclatore termina con una estensione finale a 72°C per 2 minuti, quindi la reazione viene fermata raffreddando i campioni a 4°C.

#### 5. ALLESTIMENTO DEI TUBES

Per ogni embrione viene allestito un *tube* con 8 µl di *Cresol Red*, una soluzione di colore fucsia che in presenza del mix di reazione vira assumendo una colorazione più scura, a testimoniare l'avvenuta aggiunta dei *primers*.

Per ogni ciclo di sessaggio si allestiscono altri tre 3 *tubes* contenenti ciascuno 2  $\mu$ l di soluzioni di controllo, costituite da linfociti isolati e diluiti ad una concentrazione che sia simile a quella della biopsia (quindi circa otto cellule) in modo da verificare che l'amplificatore ed i *primers* abbiano agito correttamente. Di questi tre *tubes*, due contengono i controlli maschio e femmina ed uno il controllo negativo, cioè privo di cellule, dal quale si può capire se in qualche modo le soluzioni sono state contaminate.

Dopo lo scongelamento dei *tubes* contenenti la biopsia, si aggiungono 12  $\mu$ l di mix di reazione e si amplifica per 65 minuti.

## 6. MIGRAZIONE ELETTROFORETICA

Al termine della fase di amplificazione, 20  $\mu$ l di questa soluzione sono collocati nei pozzetti del foglio di gel al 3% di agarosio.

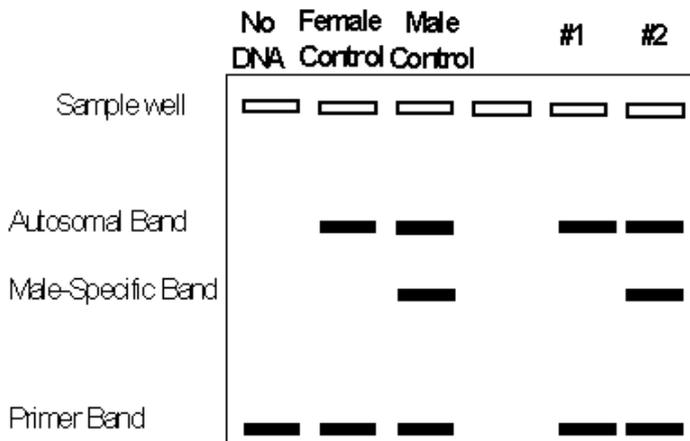
La migrazione avviene ad un voltaggio costante di 140 volt e termina dopo 20 minuti, trascorsi i quali si leggono i risultati con un transilluminatore a raggi UV.

La presenza della banda specifica corrispondente all'avvenuta amplificazione del DNA maschile (*male-specific band*-250 bp) indica chiaramente il sesso maschile del soggetto in esame (Fig. 3 e Foto 5).

La banda di controllo specifica del DNA bovino (*autosomal band*-360 bp) indica che il campione è presente, così come quella dei *primers* (*primer band*-40 bp) indica la presenza di quest'ultimi; se le operazioni sono state tutte eseguite correttamente, queste ultime due bande sono sempre presenti e indicano che il soggetto è di sesso femminile, data l'assenza della *male-specific band*.

Per quanto riguarda la lunghezza dei prodotti della PCR, essa è variabile a seconda del tipo di *primers* utilizzati. Nel nostro caso si tratta di miscele di reazione conservate in azoto liquido presenti in commercio e pronte all'uso (Ab Technology – Washington, USA).

Fig. 3: rappresentazione schematica dei risultati dopo migrazione elettroforetica. A partire da sinistra sono indicate le prime tre bande di controllo, un pozzetto di separazione senza campione, un soggetto femmina ed uno maschio.



## 7. CONGELAMENTO E SCONGELAMENTO DEGLI EMBRIONI

Durante il periodo in attesa dei risultati gli Autori hanno proceduto al congelamento in glicole etilenico (*metodo one-step*) degli embrioni micromanipolati.

Gli embrioni sono stati caricati in *paillettes* da 0,25 ml con *holding* e glicole etilenico 1,5 M, lasciati a temperatura ambiente per 5 minuti e quindi posti nel congelatore a  $-6,6\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Dopo un minuto è stata indotta la cristallizzazione (*seeding*) mediante contatto della *paillette* con un corpo metallico precedentemente immerso in azoto liquido ed abbassata gradualmente la temperatura fino a  $-33\text{ }^{\circ}\text{C}$  con un *cooling rate* di  $0,5\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{minuto}$ . Dopo un'attesa di 10 minuti a questa temperatura le *paillettes* sono state immerse direttamente in azoto liquido e conservate fino al momento del trapianto.

Gli embrioni sono stati scongelati in aria per 7 secondi e in acqua tiepida a  $28^{\circ}\text{C}$  per ulteriori 20 secondi, quindi trasferiti nelle bovine riceventi.

## 8. BOVINE RICEVENTI

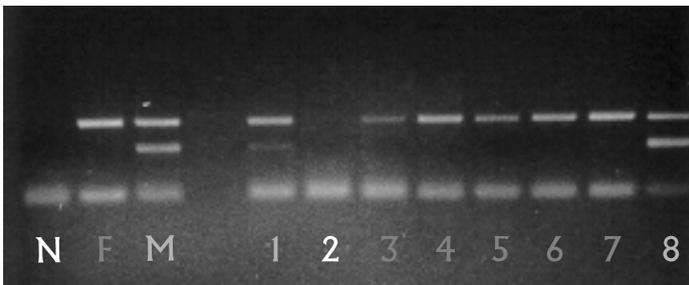
Le 42 bovine riceventi gli embrioni sessati erano di età compresa tra i 14 ed i 17 mesi.

Sono state sincronizzate mediante somministrazione di  $10\text{ }\mu\text{g}$  di GnRh (giorno zero) e  $300\text{ }\mu\text{g}$  di Cloprostenolo Destrogiro dopo 7 giorni. A 72 ore dopo l'ultima somministrazione le bovine riceventi hanno manifestato atteggiamenti estrali e 7 giorni dopo sono state visitate attraverso esplorazione rettale per valutarne l'idoneità al trapianto. Nella medesima giornata del trapianto sono stati somministrate 1.000 U.I. di hCG a ciascuna ricevente (Parmigiani et al., 2001).

La diagnosi di gravidanza è stata effettuata dal  $55^{\circ}$  al  $65^{\circ}$  giorno dal trapianto mediante esplorazione rettale. In tale contesto si è poi proceduto al sessaggio fetale con metodi ultrasonografici utilizzando una sonda lineare da 5 MHz.

### Risultati

Dopo aver verificato il corretto funzionamento del mix di reazione e l'assenza di contaminazioni mediante i pozzetti di controllo, le letture dei risultati sono state fotografate con pellicola istantanea per una più agevole consultazione nel breve e lungo termine (*Foto 5*).



*Foto 5: esempio di risultati dopo migrazione elettroforetica. A partire da sinistra troviamo le prime tre bande di controllo quindi un soggetto maschio (n°1), un campione senza biopsia (n°2), 5 soggetti femmina (n°3-4-5-6-7) ed 1 maschio (n°8).*

Gli Autori hanno sessato 126 embrioni bovini di stadio e qualità molto diverse tra loro.

Per quanto riguarda gli embrioni allo stadio di morula, 16 di questi erano femmine (44,4%), 14 maschi (38,8%), 3 dubbi (8,3%) e in 3 non era presente la biopsia (8,3%).

Delle 23 blastocisti iniziali 11 erano femmine (47,8%), 7 erano maschi (30,8%), 2 dubbi (8,6%) e 3 senza biopsia (13%); delle 42 blastocisti 20 erano femmine (47,6%), 14 erano maschi (33,3%), 5 dubbi (11,9%) e 3 senza biopsia (7,14%); infine su 25 blastocisti espanse 11 erano femmine (44%), 9 maschi (36%), 3 dubbi (12%) e 2 senza biopsia (8%) (Tab. 2).

*Tab. 2: numero e percentuale di embrioni femmine, maschi, dubbi e casi di assenza di biopsia ottenuti in seguito a sessaggio.*

Stadio di sviluppo	Totale	Femmine n° (%)	Maschi n° (%)	Dubbi n° (%)	Ass. biopsia n° (%)
<b>Morule</b>	36	16 (44,4)	14 (38,8)	3 (8,3)	3 (8,3)
<b>Blastocisti iniziali</b>	23	11 (47,8)	7 (30,4)	2 (8,6)	3 (13)
<b>Blastocisti</b>	42	20 (47,6)	14 (33,3)	5 (11,9)	3 (7,1)
<b>Blastocisti espanse</b>	25	11 (44)	9 (36)	3 (12)	2 (8)

Di questi 126 embrioni 42 sono stati trapiantati su altrettante riceventi ritenute idonee.

Gli embrioni scelti erano tutti di sesso femminile e di qualità variabile da 1 a 3; lo stadio di sviluppo era anch'esso variabile da blastocisti iniziale a blastocisti espanse (Tab. 3).

Le gravidanze ottenute dalle blastocisti iniziali sono state 2 (18,1%), 4 dalle blastocisti (20%) e 3 dalle blastocisti espanse (27,2%) e tutte erano provenienti da embrioni di qualità 1.

Se riferiamo le percentuali a quest'ultimi embrioni otteniamo il 25% di gravidanze per le blastocisti iniziali, il 26,6% per le blastocisti ed il 27,2% per le blastocisti espanse (Tab. 3).

*Tab. 3: gravidanze ottenute in seguito a trapianto di 42 blastocisti di qualità 1,2 e 3, sessate e congelate.*

Stadio di sviluppo	Totale Embrioni Trapiantati	Qualità n° (%)	Qualità n° (%)	Qualità n° (%)	Gravidanze n° (%)*	Gravidanze (%)°
<b>Blastocisti iniziali (5)</b>	11	8 (72,7)	2 (18,1)	1 (9)	2 (18,1)	25
<b>Blastocisti (6)</b>	20	15 (75)	3 (15)	2 (10)	4 (20)	26,6
<b>Blastocisti espanse (7)</b>	11	11 (100)	-	-	3 (27,2)	27,2

\* i dati si riferiscono al complesso di embrioni di qualità variabile da 1 a 3.

° i dati si riferiscono ai soli embrioni di prima qualità.

Il numero di gravidanze ottenute è stato quindi di 9 su 34 embrioni di prima qualità, pari ad una percentuale media di gravidanza del 26,4%.

La diagnosi ecografia per via transrettale ha confermato i risultati del sesso embrionale.

### *Discussione e conclusioni*

La tecnica del sesso embrionale mediante PCR ed elettroforesi si è mostrata realmente valida nell'affidabilità dei risultati.

Certo è che si tratta di una metodica molto delicata in tutte le sue fasi in particolare per quanto riguarda la presenza o meno della biopsia, dati i volumi estremamente ridotti ed il numero di cellule a disposizione.

Un altro problema non trascurabile è l'attesa durante l'amplificazione e la migrazione elettroforetica, nonché il tempo necessario per la biopsia stessa ed il suo trasferimento: pur richiedendo questo processo circa 5 minuti, se si moltiplica tale dato per il numero degli embrioni, ad esempio 10, si comprende che i tempi si allungano notevolmente.

Le cellule prelevate sembra che non riducano le potenzialità dell'embrione (Shea B.F., 1999) come pure l'assenza della zona pellucida non sembra essere un fattore essenziale per la sopravvivenza al congelamento (Herr C.M. et al., 1991), ma alla luce dei risultati ottenuti dalla nostra esperienza riteniamo che la sua presenza sia in realtà importante nell'offrire una sorta di protezione all'embrione stesso durante il congelamento.

La tecnica, dal sesso al congelamento, presenta non pochi punti critici che concorrono ad una riduzione delle percentuali di gravidanza:

l'esposizione a media comunque non ideali (ad esempio la *splitting solution*);

la pressione esercitata dal microbisturi durante la biopsia si ripercuote negativamente sulla coesione della massa cellulare;

l'assenza della zona pellucida;

esposizione al crioprotettore ed alle basse temperature.

Gli Autori ritengono quindi che il sesso embrionale possa offrire risultati soddisfacenti quando alcuni fattori di stress sono evitati, ad esempio il congelamento.

In base alla nostra esperienza l'utilizzo di embrioni di qualità 2 e 3 non ha portato ad alcuna gravidanza, per cui non se ne consiglia la micromanipolazione ma l'impiego come embrione integro; quando la qualità era ottima le percentuali di gravidanza, seppur basse, si sono mostrate accettabili.

Di notevole interesse sono le applicazioni che potrà offrire la vitrificazione di embrioni micromanipolati, tecnica questa ancora in fase di definizione, ma che promette svolte importanti nel campo della criobiologia.

Infine la determinazione del sesso può essere associata ad una *multiplex PCR* per l'analisi simultanea di altri loci specifici, quali ad esempio la k-caseina, la prolattina o il GH o ancora di geni la cui mutazione è causa di patologie di origine genetica (Chrenek et al., 2001).

**Parole chiave:** sesso embrionale; bovina; PCR, congelamento embrionale, trapianto embrionale.

**Key words:** embryo sexing; bovine; PCR, embryo freezing, embryo transfer.

**RIASSUNTO** – Gli Autori presentano la descrizione della tecnica di sessaggio embrionale mediante sezione con microbisturi; tra le altre tecniche questa presenta molti vantaggi dal punto di vista pratico. La determinazione del sesso dell’embrione si ottiene con l’amplificazione del DNA mediante reazione a catena della polimerasi e migrazione elettroforetica del prodotto della PCR. Al momento attuale gli Autori hanno sessato e congelato mediante metodo one-step (glicole etilenico) 126 embrioni ad uno stadio variabile da morula a blastocisti espansa e di qualità 1, 2 e 3; 42 di questi sono stati trapiantati in manze riceventi idonee con una percentuale di gravidanza media del 26,4% calcolato su embrioni di prima qualità, dal momento che solo questi hanno dato luogo a gravidanze.

**SUMMARY – Sexing, freezing and transfer of bovine embryos by PCR and electrophoresis: preliminary results.** The Authors describe embryo sexing by microsection and biopsy blade; this technique is more practical than other ones. Predetection of sex is obtained by DNA amplification (PCR) and electrophoresis. At the moment the Authors have sexed and freezed by ethylen glycol 126 embryos between morula and expanded blastocysts and quality 1, 2 and 3; 42 of these ones are transferred to suitable heifers and average pregnancy rate was 26,4% in relation with quality 1 embryos, because only these gave pregnancy.

#### *Bibliografia*

- Chrenek, Boulanger L., Heyman Y., Uhrin P., Laurinicik J., Bulla J., Renard J.-P. *Sexing and multiple genotype analysis from a singlecell of bovine embryo* Theriogenology 55: 1071-1081, 2001
- Herr C.M., Reed K.C. *Micromanipulation of bovine embryos for sex determination* Theriogenology 35(1): 45-54, 1991
- Bredbacka P., Kamkaanpää A., Peippo J. *PCR sexing of bovine embryos: a simplified protocol* Theriogenology 44: 167-176, 1995
- Bredbacka P., Velmala R., Peippo J., Bredbacka K. *Survival of biopsied and sexed bovine demi-embryos* Theriogenology 41: 1023-1031, 1994
- Shea B.F. *Determining the sex of bovine embryos using Polymerase Chain Reaction results: a six-year retrospective study* Theriogenology 51: 841-854, 1999
- Parmigiani E., Bigliardi E., Ambrosi v., Morini G. *Efficienza riproduttiva di riceventi trattate con hCG al momento del trapianto embrionale* Atti S.I.S.VET volume LV, 2001.

## CONSIDERAZIONI SUI RAPPORTI FRA FERTILITÀ E FUNZIONALITÀ DELLA TIROIDE NELLE BOVINE IN UNA ZONA DI ENDEmia GOZZIGENA PER LA SPECIE UMANA.

Marusi A. \*, De Rensis F. \*, Minelli R. \*, Brugnoli C.\*\*\*, Romanini G.\*\*\*

### *Introduzione*

Un controllo della situazione sanitaria degli animali può essere considerato, fra gli altri, uno strumento operativo valido per valutare gli effetti biologici delle alterazioni atmosferiche ed agrochimiche dell'ambiente in cui vivono. Come indicatori biologici di un'area agricola riteniamo che siano validi soprattutto i bovini. Il cane, per esempio, con l'addomesticamento, la antropomorfizzazione e l'alimentazione è strettamente legato all'uomo e, pertanto, può essere utile nel controllo ambientale di un'area cittadina. Il bovino, come animale da reddito e non da affezione e, non ultimo come ruminante, ha una alimentazione basata sui vegetali ed un metabolismo digestivo assai più lungo; di qui la scelta del bovino, animale a larga diffusione, come indicatore biologico in un'area montana.

Inoltre diversi lavori sono stati effettuati per determinare il rapporto tra la richiesta di iodio, il metabolismo tiroideo e problemi di fertilità in bovine da latte (Wemheuer et al., 1993). Il coinvolgimento degli ormoni tiroidei nell'adattamento metabolico nel postpartum della bovina è ormai una idea generalmente accettata ed alterazioni dei livelli ematici di T3 e T4 sono rilevabili in bovine affette da chetosi (Huszenicza et al., 2001). Per esempio nelle bovine da latte durante il periodo del post partum è stato osservato un minor tasso ematico di ormoni tiroidei (Bertoni et al., 1983).

Comunque Whitaker (1999) conclude che "nonostante diversi testi riportano che vi sia una influenza della carenza di iodio sulla fertilità nella bovina da latte non ci sono ancora ricerche che ne stabiliscano la corretta correlazione".

In questo lavoro è stata presa in considerazione la fertilità correlata alla funzionalità tiroidea mediante la valutazione della concentrazione serica del FT3, FT4, TSH partendo dall'inizio della gestazione fino alle prime fasi dopo il parto, in bovine allevate in una area montana jodio carente e con alterazioni nella funzionalità tiroidea nella popolazione residente. Come animali di controllo sono state utilizzate bovine allevate in una zona ricca di sorgenti iodate, poche decine di Km più a valle.

---

\* Dipartimento di Salute Animale. Sezione Ostetricia e Riproduzione. Facoltà di Medicina Veterinaria.

\*\* Dipartimento di Medicina Interna. Sezione di Endocrinologia e Centro Tiroide. Facoltà di Medicina. Università di Parma.

\*\*\* Liberi professionisti.

## *Materiali e metodi*

L'indagine è stata effettuata su 419 bovine di razza Bruno-Alpina e Frisona Italiana a stabulazione semilibera presenti in 12 allevamenti siti in una zona montana (Varsi, provincia di Parma) con una elevata percentuale di gozzo endemico nella popolazione (Roti et al.1986; Roti et al.1991). Come controllo sono state prese in considerazione 1022 bovine presenti in 12 allevamenti siti nella zona termale di Salsomaggiore, ricca di sorgenti iodate.

Il management aziendale è analogo in tutte le aziende in quanto il latte prodotto viene utilizzato per la produzione di Parmigiano-reggiano. Il periodo di attesa volontario post-partum è stato di 55-60 giorni.

Per l'alimentazione, oltre i foraggi aziendali, si utilizzano mangimi formulati secondo i canoni del regolamento per la produzione del formaggio Parmigiano-Reggiano.

Per la determinazione dei livelli sierici di fT3, fT4 e TSH a 14 bovine della zona jodio carente ed a 20 bovine della zona ricca di iodio sono stati eseguiti prelievi di sangue al giorno dell'inseminazione, a metà della gravidanza e 10-20 giorni dopo il parto.

Le concentrazioni sieriche di fT3, fT4 e fSH sono state misurate con la tecnica di chemiluminescenza (Kodak Diagnostica Clinica, Cinisello Balsamo, Italia).

Per tutte le bovine è stato registrato l'intervallo parto-concepimento, e la FR (fertility rate =n° di FA per gravidanza).

La diagnosi di gravidanza è stata effettuata mediante esplorazione rettale al 45-50 giorno dopo la FA.

I valori di fT4 e fT3 sono stati sottoposti ad analisi della varianza (SPSS) per misure ripetute. I valori riguardanti l'intervallo parto-concepimento e la FR sono stati confrontati mediante l'analisi anova univariata (SPSS).

## *Risultati*

Le concentrazioni sieriche medie  $\pm$  DS di fT3, fT4 e TSH riscontrate dalla inseminazione al parto sono riportate nelle tabelle 1 e 2, precisamente per gli animali allevati in zona jodio carente e animali allevati in zona con sorgenti jodate. In ciascuna azienda, i valori di fT3 e fT4 non sono risultati diversi durante i vari periodi riproduttivi considerati. I valori di fT3 sono risultati più bassi nelle aziende iodio carenti rispetto alle aziende di controllo durante il periodo post-partum ( $P < 0.05$ ) (Tab.1 e 2).

La durata dell'intervallo parto concepimento è di 149 giorni nella zona jodio-carente, 139 giorni nella zona di controllo. Il numero di FA/gravidanza è stato maggiore ( $p < 0.05$ ) per l'azienda iodio-carente (2.1) rispetto a quello della zona di controllo (1.8) (Tab.3 e 4)

## *Discussione*

I risultati di questo lavoro indicano che in presenza di bassi livelli sierici di fT3 il numero di FA richieste per gravidanza è maggiore. Tale situazione non sembra verificarsi per quanto riguarda le concentrazioni ematiche di fT4 o di TSH.

Tabella 1 - Valori serici medi  $\pm$  DS di FT3, FT4, TSH delle bovine allevate in zona jodio-carente

	inseminazione X $\pm$ DS	metà gravidanza X $\pm$ DS	post-partum X $\pm$ DS
FT3pg/ml	3.50	3.40	2.70*
FT4ng/ml	0.83	0.78	0.88
TSH mv/ml	0.004	0.003	0.002

\*(P<0.05)

Tabella 2 - Valori serici medi  $\pm$  DS di FT3, FT4, TSH nella gestazione delle bovine allevate in zona salsiodica.

	inseminazione	metà gravidanza	post-partum
FT3pg/ml	3.30	3.35	4.99
FT4ng/ml	1.08	0.89	0.93
TSH mv/ml	0.0034	0.0050	0.0047

Tabella 3 - Medie aziendali della fertilità delle bovine allevate in zona jodio-carente.

n.bovine	periodo parto-concepimento	n.inseminazioni
35	193	2.9
48	123	2.1
22	108	1.3
9	158	1.8
20	146	2.7
39	137	2.6
24	138	1.8
81	137	1.8
26	109	1.6
36	262	2.9
42	126	1.7
37	152	2.4
419	$\bar{X}$ 149	2.1

Tabella 4 - Medie aziendali della fertilità delle bovine allevate in zona salsoiodica.

n.bovine	periodo parto-concepimento	n.inseminazioni
80	155	2.3
79	105	1.2
25	166	1.6
72	138	2.5
234	131	1.7
105	146	2.1
106	167	2.0
33	139	1.1
110	120	1.6
75	135	1.5
53	165	1.7
50	112	1.9
1022	$\bar{X}$ 139	1.8

Il maggior tempo, pur limitato a giorni 10, nell'intervallo parto concepimento e una FR maggiore, nelle aziende site in zona considerata jodio-carente potrebbe suggerire che in presenza di bassi livelli sierici di ormoni tiroidei ci possa essere un aumento del numero di riassorbimenti embrionali precoci per mancato annidamento uterino. Questi dati sarebbero in linea con l'osservazione di Whitaker, (1999) che riporta come in presenza di fattori goitrogenici, tipo tiocianati, vi è incremento del numero degli aborti.

Infine questi dati confermano che l'utilizzo delle bovine da latte, alimentate con foraggi e concentrati formulati per favorire una buona produzione, possono essere utilizzate come indicatori biologici di aree carenti di iodio. L'insufficienza alimentare di jodio può indurre ipotiroidismo negli animali e nell'uomo (Safran et al. 1987).

La fertilità più bassa nelle bovine allevate in una zona gozzo endemica per la specie umana, quando non siano presenti in azienda problemi di malattie legate all'apparato riproduttore, potrebbe migliorare aumentando la quantità di jodio nei mangimi. Questo viene già praticato nella alimentazione della popolazione umana favorendo l'uso di sali iodati piuttosto che il normale cloruro di sodio.

**RIASSUNTO** - Questo studio è stato eseguito su 419 bovine allevate in una zona jodio carente e su 1022 bovine allevate in una zona ricca di iodio. A 14 animali del primo gruppo e 20 del secondo gruppo per la determinazione dei livelli sierici di fT3, fT4 e TSH sono stati eseguiti prelievi di sangue al giorno dell'inseminazione, a metà della gravidanza e 10-20 giorni dopo il parto. I valori di fT3 sono risultati più bassi nelle aziende iodio carenti rispetto alle quelle di controllo durante il periodo post-partum. La durata dell'intervallo parto concepimento è di 149 giorni nella zona jodio-carente e 139 giorni nella zona di controllo. Il numero di FA/gravidanza è stato mag-

giore ( $p < 0.05$ ) per l'azienda iodio-carente (2.1) rispetto a quello della zona di controllo (1.8). Queste osservazioni suggeriscono che in presenza di bassi livelli sierici di ormoni tiroidei ci possa essere un aumento del numero di riassorbimenti embrionali precoci per mancato annidamento uterino.

**ABSTRACT** - In the present study has been evaluated the fertility of dairy cows from herds locate in one area with iodine deficiency (Group 1; n° of animals =412) and from herds located in one area rich in iodine (Group 2; n°of animals=1022). Blood samples were taken from 14 and 20 animals form each area for the determination of serum levels of fT3, fT4 and TSH at day of AI, middle pregnancy and 50 days after calving.

The result indicate that the number of AI for each pregnancy was higher in the Group 1 (2.1) compared to group 2 (1.8). The interval calving conception (149 days for group 1 and 139 days for group 2) was not different. In conclusion the data of the present study suggest that in presence of iodine deficiency there is an decrease in fertility due to embryo loss.

### *Bibliografia*

- Bertoni G., Pallavicini G., Lombardelli R. (1983). Considerazioni e ricerche sui rapporti fra lattazione, metabolismo energetico ed attività tiroidea. *Zoot. Nutr. Anim.* 9:19-30
- Geloff BJ., Herd TH., Wells Ww., Nachreiner RF., Emery RS (1986) Inositol and hepatic lipidosis II: effect of inositol supplementation and time from parturition on serum insulin, thyroxine and triiodothyronine and their relationship to serum and liver lipids in dairy cows. *J. Anim. Sci.*, 62:1693-1702.
- Huszenicza G., Kulcsar M., Dieleman SJ., Korodi P., Bartyilk J., Rudas P., Ribiczei-Szabo P., Nikolic JA., Samanch H., Ivanov I. (2001). Hormone and metabolite profiles as well as the onset of ovarian cyclicity in dairy cows suffering from various form of ketosis. *Animal Science occasional publications* 26:399-404.
- Roti E., Gardini E., D'amato L., Salvi M., Robuschi G., Manfredi A., Dallara G., Pino S., Guazzi AM., Gnudi A., Braverman E. (1986) Goiter size and thyroid function in an endemic goiter area in northern Italy. *J Clin Endocr. Metab.* 63:558-563.
- Roti E., Bianconi L., Gardini R., Minelli R., De Franco ML., Bacchi Modena A., Bresciani D., Villa P., Neri TM., Savi M., Pistolesi A. (1991). Postpartum thyroid dysfunction in an Italian population residing in an area of mild iodine deficiency. *J. Endocrinol. Invest.* 14:669-674.
- Safran M., Paul T.L., Roti E., Braverman L.E. (1987). Environmental factors affecting autoimmune thyroid disease. *Endocrinol Metab.Clin. North Am.* 16:327.
- Whitaker DA (1999). Trace elements-The real role in dairy cow fertility? *Cattle practice* 7:239-241.

**IMPIEGO DELLA NICARBAZINA  
NEL CONTROLLO DELLA RIPRODUZIONE  
DEL COLOMBO RANDAGIO DI CITTÀ**

Bursi E. - Gelati A. - Ferraresi M. - Zannetti G. <sup>1</sup>

*Premessa*

Le modificazioni ambientali associate ai processi di urbanizzazione ed industrializzazione in atto dalla metà del secolo scorso hanno determinato situazioni microclimatiche che, soprattutto nei centri urbani, favoriscono la proliferazione di animali selvatici, più spesso uccelli, ma anche roditori, canidi e felini.

Fra gli uccelli, in particolare, assumono particolare evidenza nel senso suddetto e alle nostre latitudini i colombi che, in realtà, non sono animali di origine agrosilvestre, in quanto sono piuttosto soggetti di provenienza domestica (colombi cosiddetti "viaggiatori") rinselvaticiti o randagi, che hanno allontanato o riassorbito sotto il profilo genetico popolazioni preesistenti di animali autoctoni (colombi cosiddetti "torraioli")

Del resto la città ha tutti i requisiti per ospitare grandi popolazioni animali, fornendo loro un ambiente assai più adatto di quello silvestre alla loro proliferazione e pullulazione: da fonti di cibo costanti e abbondanti a escursioni termiche più ridotte fra estate e inverno, che sono rese comunque più sopportabili da una migliore protezione dal vento e dalla larga disponibilità di sedi di riparo e di nidificazione più sicura; dall'allungamento del fotoperiodo, legato all'illuminazione artificiale intensa e protratta della città all'assenza di predatori naturali (rapaci, ecc.), che favoriscono la riproduzione e la sopravvivenza della prole ben oltre i limiti presenti in ambiente agrosilvestre.

La pullulazione di colombi in ambiente urbano provoca, per contro, gravi problemi igienico-sanitari, quali la contaminazione del suolo e la trasmissione di malattie infettive e parassitarie all'uomo, nonché gravi danni al patrimonio storico-artistico e architettonico delle città, soprattutto quelle in cui detto patrimonio è esposto all'aperto e ben si presta per ospitare queste popolazioni animali, come accade in gran parte delle città d'arte del nostro Paese, ad esempio a Firenze, a Venezia, e a Roma.

Scopo del presente lavoro è appunto quello di discutere detti rischi da pullulazione di colombi in ambiente urbano, presentando inoltre i risultati di ricerche in campo sul controllo delle popolazioni urbane di colombi randagi con trattamenti farmacologici di massa realizzati con una molecola relativamente nuova con questa finalità, la nicarbazina.

---

<sup>1</sup> Dipartimento di Sanità Animale - Sezione di Clinica Medica dell'Università di Parma.

### *Rischio da pullulazione di colombi in ambiente urbano*

Già si è accennato ai danni che possono essere prodotti dalla presenza di numeri elevati di colombi nelle città, ma il rischio maggiore per questa presenza anomala di animali incombe in particolare sulle città d'arte, il cui patrimonio artistico può subire modificazioni irreparabili per effetto delle deiezioni deposte da queste popolazioni aviarie.

In effetti, i danni estetici, architettonici ed ecologici provocati dalla presenza dei colombi in città sono direttamente proporzionali al loro numero ed alla loro concentrazione per unità di superficie.

I danni estetici, in particolare, sono rappresentati dalla presenza di nidi in grande numero che alterano l'aspetto e il profilo architettonico di edifici monumentali, a cui si devono aggiungere l'imbrattamento degli stessi edifici da colio di escrementi e da sviluppo di muffe o colonie patinate che ne alterano il colore "storico" o possono danneggiare irreparabilmente le eventuali decorazioni cromatiche, come affreschi, ecc. (Ponghellini, 1996).

E' ben nota, infatti, l'azione erosiva degli escrementi dei volatili sui materiali calcarei e lapidei, dovuta al loro contenuto in azoto non proteico, acido fosforico e sali alcalini diversi che, veicolati dall'acqua, determinano una grave corrosione della pietra stessa per formazione di composti solubili (nitrati, ecc.) che letteralmente "sciogliono" il materiale lapideo. La presenza di grandi quantità di materiale organico favorisce inoltre lo sviluppo di microrganismi sulfiduttori, che lasciano sulla superficie della pietra e del marmo la cosiddetta "farina biologica", che conferisce loro un'irreversibile colorazione bruno-rossastra (Forlani Conti, 1984).

Ulteriori problemi da pullulazione di colombi in ambiente urbano derivano dal rischio di danni fisici indiretti alle persone, prodotti dallo scivolamento sul suolo reso viscido dalle feci, dall'insudiciamento delle strade, marciapiedi, piazze, autovetture e dai conseguenti costi continuamente crescenti per i servizi di nettezza urbana. Ne mancano inconvenienti da pullulazione di insetti coprofagi (mosche, ecc.), da produzione di odori sgradevoli, da ostruzione delle grondaie con i materiali d'accumulo trasportati dagli uccelli e da disturbo da rumore prodotto nei siti dormitorio (Scirocchi, 1996).

La presenza di un cospicuo numero di colombi in ambienti ad altissima densità demografica e con grandi flussi turistici, inoltre, può essere fonte di patologie da zoonosi e da sensibilizzazione allergico-iperergica. In particolare, la contaminazione fecale dell'ambiente e la sua polverizzazione disperde per via anemofila antigeni infettivi e sensibilizzanti, a danno soprattutto delle fasce meno protette sotto il profilo immunitario (bambini, donne in gravidanza, ammalati di AIDS, ecc.) (D'Errico, 1984; Papparella, 1989).

Le malattie che possono essere diffuse dai colombi sono clamidiosi, tubercolosi, campilobatteriosi, salmonellosi, toxoplasmosi, influenza aviaria, malattia di Lyme, stafilococchi, yersiniosi, criptococchi ed altre micosi quali l'istoplasmosi e l'aspergilloso. Inoltre i principali parassiti esterni del colombo, *Argas reflexus* ed *Argas persicus*, possono veicolare l'agente eziologico della febbre Q (*Coxiella burnetii*) e nelle deiezioni e penne di tali volatili possono svilupparsi acari, causa di frequenti allergie per l'uomo (Baldaccini, 1991; AUSL Parma, 1992, 1993; Cena e coll., 1989;

Cerri e coll., 1989; Cuteri e coll., 1995; James Smith, 1995; Piccoli e coll., 1994; Soldati e coll., 1994).

### *Metodi di controllo delle nascite e di riduzione del numero dei colombi randagi in città*

Qualunque sia la metodologia prescelta per ridurre la “pressione” numerica delle popolazioni di colombi che hanno invaso un ambiente urbano, l’intervento modificatore dell’uomo non può prescindere da una pianificazione degli interventi ( Assess. Serv. Soc. San. Firenze, 1997; Baldaccini, 1984; Ballarini, 1984; Gelati, 2000; Martelli e coll., 1988), che si sviluppa secondo le seguenti fasi:

#### **FASE ORGANIZZATIVA**

Comporta lo studio di popolazione e dei suoi componenti.

- I. Identificazione della specie infestante e del fenotipo dominante;
- II. censimento delle popolazioni presenti nell’area considerata;
- III. censimento dei luoghi di nidificazione;
- IV. identificazione delle colonie più numerose;
- V. rischi per la salute umana presenti nell’area considerata e dovuti alla presenza delle popolazioni animali identificate;
- VI. identificazione dei danni architettonici già in atto o da temere nell’area considerata;
- VII. valutazione degli strumenti disponibili sul mercato per utilizzare quelli più idonei per la situazione in atto;
- VIII. programmazione di un piano d’intervento e verifiche periodiche degli obiettivi raggiunti;
- IX. predisposizione di interventi successivi per il mantenimento dei risultati ottenuti..

#### **FASE TECNICA**

##### *a) Censimento*

La valutazione della gravità del problema deve avvenire prima di intraprendere ogni tipo di intervento, anche per valutare l’efficacia delle metodologie adottate

- I. Censimento pre intervento: da eseguirsi a primavera alle prime luci dell’alba.
- II. Censimento post intervento: da eseguirsi periodicamente dopo ogni intervento.

##### *b) Applicazione di metodologie singole o associate per ridurre il numero dei colombi*

#### **OSTACOLAMENTO DELLA NIDIFICAZIONE**

Si realizza, innanzitutto con la predisposizione di ostacoli all’accesso di siti potenziali di nidificazione (sottotetti, grondaie, nicchie murarie, anfratti, ecc.) mediante mezzi fisici (reti, vetri, ecc.) che impediscono l’accesso e/o l’appoggio degli uccelli (Ballarini G., 1984; Ballarini e coll., 1989).

In sedi o strutture (cornicioni, statue monumentali, ecc.) si è ricorsi all’uso di sostanze repellenti o tali da rendere sdruciolevoli le sedi di appoggio, come sostanze vischiose o di odore ripugnante per gli animali

Analoghe funzioni di scoraggiamento della nidificazione o del solo appoggio degli uccelli hanno i dispositivi che reggono punte disposte verticalmente “a spazzola” e fissate sulle superfici da proteggere, che rendono dolorosa o insicura la sola “posa” dei colombi.

Si tratta, peraltro, di dispositivi che non possono essere collocati in tutte le sedi, richiedono una manutenzione frequente e costosa e stimolano spesso la ricerca di “soluzioni alternative” da parte dei colombi stessi, che ne vanificano la realizzazione (Dell’Olmo e coll.,1996 ).

Un altro metodo per ostacolare la nidificazione è quello della distruzione sistematica dei nidi, via via che vengono realizzati dalle coppie di colombi. E’ un procedimento efficace che, però, può suscitare reazioni negative da parte dell’opinione pubblica, in quanto deve necessariamente comportare la rottura delle uova in cova o, addirittura, l’uccisione dei nidiacei. Questo metodo, inoltre, richiede la preparazione l’attivazione di squadre di operatori “acrobati”, in grado di operare ad altezze considerevoli dal piano stradale, in condizioni di appoggio alto rischio su strutture spesso fatiscenti (tetti, cornicioni, ecc.) e, quindi, con un costoso supporto tecnico-strumentale (autoscale, sostegni di sicurezza, ecc.).

#### CONTROLLO DELLE FONTI DI ALIMENTAZIONE

La disponibilità pressochè illimitata di alimenti che qualifica l’ambiente urbano per i colombi randagi può essere controllata e teoricamente ridotta con la realizzazione di metodiche di raccolta dei rifiuti solidi urbani, fonte primaria di “becchime” di detti animali, che escludano ogni dispersione di materiale potenzialmente alimentare nell’ambiente o che, comunque, aumenti la quantità di alimenti per i randagi. Detti provvedimenti devono comprendere anche la proibizione assoluta di dispersione di becchime da parte di zoofili mediante apposite ordinanze comunali e conseguente attività repressiva da parte degli organi di polizia.

Si tratta di disposizioni assai impopolari, che gli organismi amministrativi locali non sono sempre disposti ad emanare, anche perchè spesso vanno contro interessi commerciali specifici: si pensi alle dozzine di quintali di cereali che vengono venduti quotidianamente ai turisti nella piazza San Marco a Venezia, proprio per essere distribuiti ai colombi.

#### CATTURA E SOPPRESSIONE DEI COLOMBI

Si tratta di interventi che, ancor più di quelli precedentemente illustrati, ripugnano alla gran parte dell’opinione pubblica, anche quella non spiccatamente zoofila e non possono avere, perciò, un’applicazione sistemica. Sotto il profilo tecnico, inoltre, questa metodologia .non è assolutamente risolutiva, perchè l’attività riproduttiva del colombo è di tipo opportunistico e, quindi, in breve tempo dopo il “prelievo” cruento di un certo numero di animali, la colonia di provenienza ritorna facilmente ai numeri iniziali, vanificando anche le risorse utilizzate.

#### CATTURA E LIBERAZIONE DEI COLOMBI

Poiché l’ ”homing” o “animus revertendi” , ossia la tendenza a far ritorno alla sede di origine, è ben sviluppato anche nel colombo di città, la cattura e la successiva liberazione di questo animale anche in sedi distanti centinaia di chilometri dalla

quella di origine non risolve in alcun modo il problema, in quanto si rischia di vedere ritornare i colombi in città nel giro di pochissimo tempo.

#### CATTURA E STERILIZZAZIONE CHIRURGICA (VASECTOMIA)

Questo metodo comporta la cattura, il sessaggio dei colombi e l'intervento di deferentotomia bilaterale in anestesia generale. Il metodo è sicuramente efficace, ma è assai costoso, non può essere applicato su grandi numeri di animali e comporta un'elevata percentuale di mortalità intra- e postoperatoria (Menini e coll., 1994).

#### ABBATTIMENTO CON UTILIZZO DI ARMI DA FUOCO

Questo metodo non è quasi mai praticabile in ambiente urbano o, comunque, intensamente popolato e può facilmente suscitare proteste da parte dell'opinione pubblica protezionista e animalista.

#### ELIMINAZIONE MEDIANTE AVVELENAMENTO

Questa procedura non è facilmente proponibile per i rischi connessi alla distribuzione di sostanze tossiche nell'ambiente urbano, di cui può essere difficile seguire il destino e ricuperarne i residui del materiale distribuito in eccesso.

#### USO DI REPELLENTI FISICI

Questa metodologia prevede l'utilizzo di mezzi fisici diversi, come la corrente elettrica a bassa tensione e l'emissione di ultrasuoni: hanno però un limitato raggio d'azione ed i volatili si assuefanno facilmente e in breve tempo all'emissione di ultrasuoni e addirittura alle correnti di basso voltaggio. Gli emettitori di ultrasuoni, inoltre, hanno costi elevati di acquisto e di manutenzione, mentre le strutture di protezione in cui viene immessa la corrente elettrica richiedono interventi frequenti di riparazione e pulitura dei conduttori (Rossi, 1984).

#### LOTTA BIOLOGICA

Si realizza con l'immissione nell'ambiente urbano di rapaci diurni e notturni, in grado di terrorizzare i colombi e di ridurre la capacità di conservazione numerica dello stormo o della colonia cibandosi dei novelli e delle uova

Per questo scopo sono stati usati il barbagianni (*Tyto alba*), l'allocco (*Strix aluco*), il falco pellegrino (*Falco peregrinus*).

I risultati di questa metodica sono discutibili. Ad esempio a Firenze, in un'esperienza fatta alcuni anni or sono, i predatori utilizzati (taccola nera) sono andati ad appollaiarsi sulla sommità del Duomo, senza concretamente sviluppare alcun effetto deterrente sulle popolazioni di colombi presenti nell'area monumentale (Comune di Firenze, 1997).

Ulteriori difficoltà di applicazione di questo metodo derivano dall'adattamento stentato e, in molti casi, impossibile dei rapaci all'ambiente urbano, tanto che in molte prove di questo tipo detti animali si sono irrimediabilmente feriti urtando in volo antenne televisive e fili elettrici sospesi ovvero sono stati travolti da autoveicoli: i più fortunati si sono rapidamente allontanati dall'ambiente urbano.

## VACCINAZIONE “ANTICONCEZIONALE”

Sono stati ipotizzati interventi vaccinali in grado di bloccare la riproduzione dei colombi attraverso l'inoculazione di F.S.H. (Ormone Follicolo stimolante), che determinerebbe la formazione di anticorpi anti-FSH inibenti la maturazione delle gonadi ( Comune di Firenze, 1997). Si tratta di metodologia ancora non ben studiata nei suoi aspetti applicativi, ma implica comunque la cattura, il sessaggio e l'inoculazione individuale di centinaia di soggetti, con costi e problemi organizzativi assai consistenti

## CONTROLLO FARMACOLOGICO DELLA RIPRODUZIONE

Una prospettiva più moderna di controllo delle nascite nelle popolazioni di uccelli inurbati è rappresentata dalla somministrazione agli stessi di sostanze ad effetto antifecondativo, in grado di deprimere per tempi più o meno lunghi l'attività riproduttiva di questi animali.

Un farmaco di largo impiego in Germania è il **busulfan**, un citostatico in grado di bloccare la spermatogenesi e la maturazione dei follicoli ovarici dopo un'unica somministrazione a dosi di 240 mg/kg p.v. ( pari a 40-60 mg per colombo) per periodi di 4-6 mesi .

Con questo sistema sarebbero perciò sufficienti due trattamenti all'anno per diminuire le “rimonte” della colonia durante l'intera annata riproduttiva.

Effetti pressoché uguali si possono ottenere con l'**azacolesterolo**, un farmaco ipocolesterolemizzante che interferisce pesantemente nella sintesi dei grassi del tuorlo fino ad inibire la fecondazione dell'uovo, se somministrato in quantità pari al 1% della dieta per cicli di 10 giorni.

Altre sostanze usate come antifecondativi negli uccelli sono di natura ormonale, come il **progesterone** e il **mestranolo**, che in effetti si sono dimostrati in grado di competere con i composti precedentemente citati nell'indurre depressione dell'attività riproduttiva (Carsanga,1996).

L'impiego pratico di queste sostanze ha trovato gravi ed insormontabili ostacoli, peraltro, nella natura ormonale o nei rispettivi effetti tossici, che hanno destato giustificato allarme in ordine ad incontrollabili inquinamenti ambientali da questi farmaci (Ballarini, 1984; Valfrè e coll. ,1992). .

## TRATTAMENTO CON NICARBAZINA

Le osservazioni eseguite nel corso delle sperimentazioni sull'impiego della **nicarbazina** nei colombi urbani hanno messo in evidenza l'assoluta atossicità dei trattamenti con questo farmaco. I rilievi clinici, di laboratorio ed anatomo-isto-patologici, hanno confermato che i dosaggi compresi entro il limite massimo (400 ppm in voliera, 800 ppm in campo) non provocano effetti sistemici indesiderati per gli animali trattati né sono presenti modificazioni anatomiche o funzionali a carico dei grandi parenchimi, che possano indurre stati di sofferenza fisica, obiettiva e soggettiva. Ciò è in perfetta assonanza e coincidenza con quanto noto da anni nella bibliografia internazionale sull'argomento ( Hughes e coll. , 1991; Hurwitz et coll.,1975). Anche i primi risultati su colombi in cattività confermano l'efficacia dei dosaggi sopraindicati nel blocco dell'ovodeposizione (Martelli e coll., 1996; Zannetti e coll., 1998).

Inoltre non vi sono rischi ambientali per quanto riguarda la dispersione del far-

maco in questione nell'ambiente, in quanto la tossicità per i mammiferi si evidenzia a dosaggi di 1 g/kg p.v./die impossibili da raggiungere in condizioni di distribuzione "controllata" nell'ambiente.

#### *Caratteristiche farmatologiche della nicarbazina come anticoncezionali negli uccelli*

La nicarbazina è un principio attivo ad azione coccidiostatica, da anni in uso in medicina e terapia aviaria e di cui sono note ed ampiamente descritte le caratteristiche farmacocinetiche e tossicologiche (Hughes et al., 1991). In particolare da tempo ha attirato l'attenzione dei ricercatori la pesante interferenza della nicarbazina sulla funzione riproduttiva degli uccelli, che fra l'altro ha giustificato la sua eliminazione dall'impiego nei broilers e negli uccelli comunque adibiti ad attività riproduttive (galine ovaiole, ecc.).

La nicarbazina, inoltre, si qualifica per la sua pressochè totale atossicità sistemica, in quanto composto del tutto privo di effetti modificatori sui principali organi e sui parenchimi vitali (Ferraresi e coll., 1997).

Inoltre l'attività farmacomodificatrice della nicarbazina riguarda solamente i processi che attingono alla maturazione dell'uovo, prima ancora che alla fecondazione e, perciò, non interferisce in processi fisiologici anche inerenti all'apparato riproduttivo (equilibri ormonali, ecc.). Si suppone, infatti, che gli effetti modificatori della nicarbazina sulla fecondità degli uccelli sia dovuta ad un'aumento della velocità taluni processi metabolici e al conseguente aumento della temperatura rettale.

#### *Osservazioni personali*

Alla luce di quanto precedentemente detto, risulta di fondamentale importanza la possibilità di realizzare un metodo di controllo incruento e privo di effetti patogeni secondari delle popolazioni di colombi randagi nei centri storici e nelle zone monumentali delle città, finalizzato a migliorare la situazione igienico-sanitaria e la conservazione dei patrimoni artistici e monumentali delle città stesse.

In questa prospettiva si è ritenuto utile sperimentare in condizioni diverse di ambiente e di operatività l'efficacia e la sicurezza d'impiego della nicarbazina quale strumento di modulazione numerica delle popolazioni aviarie.

#### ***PROVE DI CAMPO SULLA NICARBAZINA NEL CONTROLLO DELLE NASCITE DELLE POPOLAZIONI DI COLOMBI RANDAGI IN CITTÀ***

Per valutare l'efficacia di un trattamento mirato con nicarbazina su popolazioni urbane di colombi randagi si sono assunti come parametri di quantificazione della stessa l'attività riproduttiva e l'ovodeposizione, nonché le rispettive conseguenze sulla consistenza numerica delle tribù o branchi di colombi randagi stanziati in ben definiti contesti o ambienti tipicamente urbani, rilevate prima e dopo trattamento con nicarbazina.

## *Materiali e metodi*

La sperimentazione è stata eseguita negli anni 1997 e 1998 nelle sedi sottoindicate e con le modalità che si specificano di seguito

### *Sedi di effettuazione della prova:*

- Comune di Parma (PR): Centro storico
- Comune di Forlì (FO): Centro storico
- Comune di S.Felice s/P (MO): Centro storico
- Comune di Carpi (MO): Centro storico

### *Censimento pre-trattamento.*

Come già si è detto, qualunque tipo di intervento di controllo delle nascite nel colombo di città deve essere preceduto da una valutazione accurata dei risvolti biologici ed ambientali della situazione che ci si accinge a modificare. Detta valutazione non può che iniziare con la definizione quantitativa del problema, che passa necessariamente attraverso il censimento delle popolazioni aviarie sulle quali si intende agire. Nelle ricerche in oggetto, detto censimento è stato eseguito con il metodo del reticolo (Bibby e Burgess,1988), attuato con la collocazione ideale dell'area o del monumento al centro di un quadrato con lati di circa 200 metri; per superfici indivisibili e più estese si è proceduto alla definizione di più quadrati con le caratteristiche suddette.

Ognuno di detti quadrati è stato suddiviso in 4 quadranti uguali sui quali, nei giorni 1, 7 e 14 del mese precedente quello di inizio del trattamento, alle prime luci dell'alba, è stato effettuato il conteggio dei colombi presenti e visibili da due diversi punti di osservazione, identificati nel corso della definizione dei quadranti stessi e utilizzati senza modificazioni anche per tutti i conteggi successivi.

Per ciascuna stazione di osservazione, il conteggio ha avuto la durata di 5 minuti esatti. Il conteggio finale dei colombi per ciascun quadrato era costituito dalla somma dei numeri di colombi conteggiati nelle 8 stazioni presenti su ciascun quadrato.

Per i quadranti che comprendevano nel loro perimetro ideale strade o viali, il conteggio con il metodo del reticolo è stato integrato dai dati rilevati con il metodo del transetto (Bibby e Burgess,1988), *in cui* l'osservatore percorreva un percorso longitudinalmente la strada e contava i colombi che via via incontrava sul suo tragitto, sommandone i rispettivi numeri a quelli che, quadrante per quadrante, erano stati precedentemente conteggiati.

### Trattamento.

La somministrazione del mangime medicato con nicarbazina ha avuto inizio di norma nel mese di marzo ed è stata protratta fino al mese di ottobre dello stesso anno. In alcune sedi di sperimentazione che saranno più oltre specificate, l'inizio della somministrazione del mangime medicato è slittata di alcuni mesi, ma è sempre stata rispettata la scadenza del mese di ottobre per l'interruzione del trattamento.

L'intervento di controllo dell'attività riproduttiva mediante somministrazione protratta e controllata di nicarbazina è stato rivolto esclusivamente a volatili di taglia e biologia riferibile ai colombi "di città" precedentemente descritti.

Detta esclusività di “target” farmacomodificatore è stata assicurata, innanzitutto, attraverso la somministrazione del beccime trattato con questo farmaco in quantità il più possibile adeguate al numero di animali da trattare, in modo da non lasciare sul terreno residui consistenti del materiale alimentare medesimo.

E' stata cura, inoltre, del personale addetto di garantire la distribuzione dell'alimento in ore fisse ed in luoghi altrettanto fissi, da rispettare al minuto, sia per favorire l'assuefazione e, addirittura, l' "attesa" degli animali (il colombo è un animale molto abitudinario !) per l'alimento stesso, sia per impedire che il farmaco potesse essere assunto da animali con altri pattern comportamentali (rapaci, animali notturni, ecc.). In questo medesimo ordine di idee, è stato utilizzato per la prova un beccime a base di mais a chicchi molto grossi, per impedire che lo stesso venisse assunto da altri uccelli granivori di taglia più piccola (passeri, storni, ecc.).

La somministrazione di nicarbazina è stata effettuata utilizzando un mangime a base di granella di mais in cui era stato adsorbito il principio attivo in concentrazione pari a **800 mg/kg** (ppm) di prodotto finito. Sono stati somministrati in media 30 grammi/capo/die di tale mangime, affinché non ne rimanessero residui nelle aree di distribuzione.

Le sedi di effettuazione delle prove oggetto dello studio sono state localizzate nella parte monumentale dei centri storici delle città precedentemente citate, in aree ed edifici in cui esistevano condizioni ottimali per realizzare gli obiettivi della prova medesima, soprattutto per quanto atteneva al censimento delle popolazioni di colombe ivi localizzate nelle diverse fasi della sperimentazione.

Sono state perciò escluse aree sulle quali gravitassero tribù consistenti di altri uccelli selvatici (tortore, storni, passeri, ecc.), nonché aree in cui l'attività di censimento trovasse obiettive difficoltà di espletamento (aree a traffico intenso o di accesso difficile o limitato per i colombe o per gli sperimentatori, ecc.) e non sono state incluse nei gruppi di trattamento popolazioni di colombe in cui il censimento pre-trattamento avesse dimostrato la presenza di qualsivoglia stato di malattia, nonché un rapporto “anziani”/“novelli” diverso da quello ritenuto fisiologico per l'ambiente.

#### *Censimento post-trattamento*

Il primo controllo delle modificazioni della dinamica della popolazione di colombe in ciascuna area è stato fatto in tre rilevamenti mensili successivi all'interruzione del trattamento con nicarbazina e con i metodi descritti per il censimento pre-trattamento.

Attraverso l'osservazione diretta della popolazione presente in questa fase della prova nelle medesime aree si è così definito anche un profilo della popolazione di colombe presente al momento. Tale profilo è stato costruito per categorie di età e distinguendo i soggetti “dell'anno”, ossia i “novelli” nati durante il trattamento con il preparato in discussione, dai soggetti già in riproduzione nel periodo in esame.

Inoltre sui soggetti trovati morti per qualsivoglia motivo sono stati eseguiti accertamenti anatomo- ed istopatologici accurati, soprattutto per quanto attiene all'apparato riproduttore.

#### Design della prova

La prova in oggetto per le sue caratteristiche farmacologiche e operative-applica-

tive assume una specifica connotazione di “studio-pilota”. Non è infatti ipotizzabile uno studio più controllato (gruppi di controllo, ecc.) di effetti modificatori di un farmaco su una popolazione animale inserita in un contesto ambientale difficilmente ripetibile, come è quello urbano.

Per questo motivo, la tecnica comparativa si è espressa in forma di studio sequenziale degli effetti del trattamento farmacologico in esame sulle stesse popolazioni animali, in momenti diversi rispetto al trattamento medesimo.

Il controllo dei possibili errori è stato agevolmente attuato operando su diversi contesti ambientali, in sedi urbane diverse, lontane l’una dall’altra e con differenti condizioni ambientali.

Altrettanta cura è stata posta nell’evitare errori di valutazione delle fluttuazioni delle popolazioni aviarie su cui si è effettuata la ricerca.

Inoltre la verifica quantitativa dell’effetto farmacologico, ossia il censimento di controllo post-trattamento, è stata fatta in tempi relativamente lontani dall’interruzione del trattamento, non prima comunque della fine dell’inverno successivo. In questo momento, in effetti, le popolazioni selvatiche escono dalla selezione operata dai rigori dell’inverno, che “livellano” la consistenza relativa delle popolazioni stesse con l’eliminazione dei soggetti più anziani. Questo effetto, alle nostre latitudini ed in ambiente urbano, ha conseguenze abbastanza ripetibili e quasi costanti, nel senso che alla fine dell’inverno le tribù di colombi, di norma, sono mediamente costituite, come già si è detto, dal 20% di soggetti di oltre un anno di età (“anziani”) e dall’80% di cosiddetti “novelli”, ossia nati nell’ultima annata riproduttiva.

Un aumento percentuale del numero di “anziani” e un conseguente calo di “novelli”, dunque, segnala senza alcun dubbio una riduzione dell’efficienza riproduttiva nella stagione precedente il censimento stesso.

#### Modalità di accertamento dell’efficacia del trattamento con nicarbazina

L’accertamento dell’efficacia della preparazione farmaceutica oggetto della sperimentazione in causa è stato fatto sulla base dei seguenti parametri:

1) modificazione numerica assoluta delle popolazioni censite all’inizio delle prove e nei mesi successivi all’interruzione della somministrazione della nicarbazina; modificazione del rapporto “anziani/novelli” nei due momenti della singole prove (indicati alla lettera 1);

I centri coinvolti nella presente ricerca sono stati i seguenti:

**Parma** - 9 sedi, studiate fra febbraio e ottobre 1997

**Forlì** - 1 sede studiata fra giugno e ottobre 1997

**S. Felice sul Panaro** - 1 sede studiata fra febbraio e ottobre 1997

**Carpi** - 9 sedi, di cui 4 studiate fra marzo e ottobre 1996 e 5 studiate fra marzo e ottobre 1997

Si è ritenuto opportuno, inoltre, distinguere i dati raccolti per centri con una o più sedi, per anno (‘96-‘97) e per durata; in particolare il centro di Forlì, con uno studio della durata di 4 mesi, è stato considerato centro di studio breve, mentre tutti gli altri centri, sedi di 7-8 mesi di osservazione, sono stati intesi come centri di studio lungo.

Lo scopo della prova è stato quello di verificare la possibilità che con la somministrazione di nicarbazina si ottenesse una riduzione delle popolazioni di colombi nelle sedi-centri in studio.

Per ogni centro sede di osservazioni si sono raccolti dati tali da consentire l'acquisizione per un censimento o conta di base e di un censimento o conta finale.

Due centri, Parma e Carpi, hanno compreso ognuno 9 sedi e per gli stessi, quindi, è stato possibile calcolare delle medie sommando i censimenti delle varie sedi all'inizio ed al termine del trattamento

I dati così ottenuti e tabulati in ogni momento della prova sono stati elaborati secondo il metodo statistico dell'ANOVA con software specifico.

### *Risultati*

I risultati delle nostre osservazioni sono riportati nelle tab. 1, 2, 3 e 4 per quanto attiene alla valutazione degli effetti del trattamento con nicarbazina sulle popolazioni di colombi presenti nelle diverse sedi di ricerca, mentre nella tab. 5 sono riportati i dati relativi a fenomeni avversi rilevati sugli animali oggetto della prova, potenzialmente riferibili al trattamento con nicarbazina.

### *Discussione*

I dati ottenuti nei due censimenti, riportati in dettaglio in tab. 1, mostrano le frequenze osservate nelle sedi dei centri di Parma e di Carpi e nelle sedi-centri di S. Felice sul Panaro e di Forlì.

Dall'esame più attento della suddetta tabella, si rileva innanzitutto una certa variabilità numerica fra sedi dello stesso centro, specie per Parma (estremi 120 - 1500 al tempo basale), fra anni delle rilevazioni, ad esempio Carpi, in cui si hanno nel 1996 valori estremi iniziali di 64 e 260, mentre nel 1997 gli stessi valori estremi iniziali corrispondono a 100 e 262. I valori iniziali dei centri con una sola sede appaiono facilmente inscrivibili fra gli estremi ricordati, benchè tendenti a livello elevato.

L'esame dei dati riportati nella tab. 2, in cui sono riportate medie e dati dell'ANOVA (analisi della varianza), consente di rilevare che nel centro di Parma, la media iniziale di  $357,6 \pm 150,3$  ( $m \pm ES$ ) si abbassa dopo 8 mesi di trattamento a  $179,7 \pm 96,1$  mentre nel centro di Carpi (cumulo degli anni 1996 e 1997) la media iniziale di  $139,6 \pm 24,34$  si abbassa a  $87 \pm 16,575$ .

Nonostante la notevole variabilità dei gruppi, l'ANOVA sui dati originali, indica decrementi medi statisticamente altamente significativi (fra tempi  $F = 11,65$ ,  $P < 0,01$ ), senza differenza fra i due centri, nonostante il divario fra le medie iniziali ( $F = 3,43$ ;  $0,05 < P < 0,10$  per l'interazione TE x CE,  $F = 2,04$ ;  $P > 0,05$  fra i centri a tempo basale).

Per ulteriore prudenza si è applicata la stessa ANOVA ai dati trasformati (logaritmi), ottenendo risultati pressochè analoghi ( $F = 20,34$  e  $P < 0,001$  fra tempi,  $F = 1,31$  e  $P > 0,05$  per l'interazione TE x CE e  $F = 3,33$ ;  $0,05 < P < 0,10$  per il confronto delle medie iniziali).

E' comunque ben documentato l'effetto di forte riduzione delle medie a seguito di trattamento con nicarbazina ( $P < 0,01 - 0,001$ ), senza alcuna differenza significativa fra i due centri.

Questi risultati indicano che tutte le sedi e i centri considerati nella presente ricerca hanno popolazioni di colombi ugualmente e globalmente sensibili alla nicarbazina.

Tabella 1 – Centri e sedi studiate, ai tempi indicati numero dei colombi censiti

CENTRI	SEDI (entro centri)	Censimenti ai tempi	
		Inizio del trattamento (data)	Termine del trattamento (data – durata)
		<b>Febbraio 1997</b>	<b>Ottobre 1997 (8 mesi)</b>
<b>PARMA</b>	Pilotta – P.za della Pace	514	92
	V.S. Alessandro – S. Bartolomeo	120	22
	V. e P.za Garibaldi	125	76
	Duomo – S. Giovanni	150	129
	P.zza S. D’Acquisto	390	200
	Ex Consorzio	1500	933
	Borgo Parmigianino	130	28
	S. Annunziata- Borgo Catena	140	115
	P.za Picelli	150	23
		<b>Marzo 1996</b>	<b>Ottobre 1996 (7 mesi)</b>
	P.za Castello – Torre Uccelliera	260	169*
	Duomo	104	116
	P.za Bertesi – V. Fontana	64	35
	S. Maria della Pieve	84	98
<b>CARPI</b>		<b>Marzo 1997</b>	<b>Ottobre 1997 (7 mesi)</b>
	V. Ramazzini	150	56**
	Angolo Borgo Fortino	103	14
	P.za Garibaldi	262	85
	V. S. Francesco	130	70
	Duomo	100	140
		I. Febbraio 1997	<b>Ottobre 1997 (8 mesi)</b>
<b>S.FELICE sul Panaro</b>	Castello	280	100
		<b>Giugno 1997</b>	<b>Ottobre 1997 (4 mesi)</b>
<b>FORLÌ</b>	Rocca di Ravaldino	200	63

\* di cui 18 novelli (10,65% dei censiti); \*\* di cui 5 novelli (8,92% dei censiti)

na, perchè in tutti i centri, al termine del trattamento, il numero dei colombi è apparso significativamente ridotto.

Lo studio su tutti i centri per quanto riguarda i dati di frequenza ha fornito i risultati esposti in tab. 3, ove i valori dei conteggi iniziali e finali sono stati distinti per l’anno 1996 (unico centro Carpi), per l’anno 1997 (Carpi e tutti gli altri centri), entro

Tabella 2 – Medie  $\pm$  ES dei colombi censiti nei centri con più sedi (Parma e Carpi) all'inizio (TE 1) e al termine (TE 2) del trattamento. Confronti delle medie come indicato sui dati originali e sui dati trasformati (logaritmi)

CENTRI (CE)											
PARMA					CARPI						
TEMPI DELLO STUDIO (TE)					TEMPI DELLO STUDIO (TE)						
TE 1			TE 2		TE 1			TE 2			
N	TOTAL	m $\pm$ ES	N	TOTAL	m $\pm$ ES	N	TOTAL	M $\pm$ ES	N	TOTALE	m $\pm$ ES
	<u>E</u>			<u>E</u>			<u>E</u>				
9	3219	357,6 $\pm$ 150,3	9	1618	179,7 $\pm$ 96,136	9	1257	139,6 $\pm$ 24,34	9	783	87 $\pm$ 16,575

N (Numero delle sedi)

Confronti delle medie con ANOVA, come indicato, valori di F e di P

	Dati originali					Dato trasformati (logaritmi)			
	FRA CE a TE 1	FRA TEMPI TE 1 vs. TE 2	FRA CENTRI CE 1 vs. CE 2	INTERAZIONE TE x CE		FRA CE a TE 1	FRA TEMPI TE 1 vs. TE 2	FRA CENTRI CE 1 vs. CE 2	INTERAZIONE TE x CE
<b>F</b>	2,04	11,65	1,58	3,43	<u>F</u>	3,33	20,34	1,18	1,31
<b>P</b>	> 0,05	< 0,01	> 0,05	> 0,05 < 0,10	<b>P</b>	>0,05 <0,10	< 0,001	> 0,05	> 0,05

Tabella 3 – Approfondimento dell’ANOVA entro il centro di Carpi per confrontare i dati di anni diversi. Altri simboli e abbreviazioni come nella tabella precedente. Confronti di medie con ANOVA, come indicato, valori di F e di P

ANNI											
1996						1997					
TEMPI						TEMPI					
TE 1			TE2			TE1			TE2		
N (numero delle sedi)	TOTALE	m ± ES	N	TOTALE	M ± ES	N	TOTALE	m ± ES	N	TOTALE	m ± ES
	4	512	128 ± 44,751	4	418	104,5 ± 33,84	5	745	149 ± 29,705	5	365
<b>Confronti delle medie con ANOVA, come indicato</b>											
	<b>FRA ANNI a TE 1</b>	<b>FRA TEMPI TE 1 vs. TE 2</b>	<b>FRA ANNI '96 vs. '97</b>	<b>INTERAZIONE TE X ANNI</b>							
<b>F</b>	0,17	7,96	0,019	2,05							
<b>P</b>	> 0,05	< 0,05	> 0,05	> 0,05							

l'anno 1997 per durata breve (centro di Forlì) e lunga (Parma, Carpi, S. Felice) e, infine, entro il termine lungo, per dimensione dei centri (Parma e Carpi grossi centri, S. Felice piccolo centro). In questa tabella è comunque possibile obiettivamente in tutti i centri un calo dei colombi al termine delle osservazioni.

La stessa tabella riporta anche il calo percentuale rispetto al valore iniziale di ogni centro. Questo valore è variabile, in quanto compreso fra un minimo di 18,35% (nell'anno '96, Carpi) e un massimo di 68,5% (anno '97, breve termine, Forlì). Queste differenze trovano riscontro nel valore generale di "chi quadrato" = 72,62 ( $P < 0,001$ ), valore altamente significativo.

Per quello che riguarda l'effetto del trattamento con nicarbazina sul numero finale dei **novelli**, per la complessità e la specificità dei conteggi sono stati rilevati solamente i dati finali di studio per una sede di Carpi 1996 e per un'altra sede dello stesso centro per l'anno 1997 (tab. n. 4). Detti dati, pur limitati ( $18/169 = 10,65\%$  dei censiti del 1996 e  $5/56 = 8,92\%$  dei censiti del 1997) indicano comunque la presenza di valori dei conteggi dei novelli ben lontani da un ipotetico 50% dei censiti.

Una valutazione globale dei dati ottenuti nella ricerca in oggetto e riportate nelle tabelle sopra illustrate mette in evidenza che le pur modeste differenze rilevate fra i cali dei conteggi di colombi registrati in tempi, sedi e durate del trattamento con nicarbazina riguardano ambedue gli anni o periodi delle rilevazioni (l'efficacia minima è stata rilevata nel 1996), nonchè, entro l'anno 1997 ed in ordine crescente di efficacia, i due centri grossi e il centro più piccolo entro il lungo termine, mentre il massimo di efficacia si registra nel breve termine.

Alla luce dei dati precedentemente illustrati e discussi, appare comunque assai documentato per la nicarbazina un effetto di riduzione della popolazione urbana di colombi, sia per quanto riguarda il calo della totalità dei colombi presenti nelle diverse sedi di ricerca, sia per quanto attiene al numero dei novelli "dell'anno".

Il numero di animali morti o evidentemente ammalati nel corso dello studio si è mantenuto entro limiti di assoluta normalità in tutte le sedi di prova ed in tutti i periodi considerati.

Per acquisire ulteriori dati su eventuali effetti tossici dei trattamenti in questione, tutti i soggetti rinvenuti morti o in fin di vita sono stati sottoposti ad accertamenti necroscopici e batteriologici, che hanno costantemente evidenziato lesioni anatomo-patologiche e riscontri batteriologici significativi per *Salmonella*, *Mycoplasma*, *E. coli*, nè sono mancati reperti altamente sospetti per pseudopeste aviaria.

Detti rilievi inducono a ritenere che in nessun punto o sede di osservazione e di ricerca siano insorte fenomenologie individuali o di gruppo e, ancor meno, casi di decesso riferibili, anche in via ipotetica, al trattamento con nicarbazina.

### *Considerazioni conclusive*

Quanto precedentemente riferito e discusso in argomento di trattamento anticoncezionale di colombi randagi in ambiente urbano con nicarbazina consente le seguenti conclusioni:

a) Il trattamento con nicarbazina, alle dosi e con le modalità applicate nella prova, si è dimostrato in grado di ridurre in maniera significativa le popolazioni di colombi

Tabella 4 – Per tutti i centri (entro alcuni centri somma delle sedi) variazioni del numero di colombi censiti all’inizio e al termine del trattamento. Frequenze e calo % dei valori iniziali per gli anni indicati e, entro il 1997, entro trattamento breve (4 mesi) e lungo (7 –8 mesi). Calcolo di  $\chi^2$  generale, metodo di Brandt – Snedecor

Anno	Centro	Durata dello studio	Inizio (I)	Termine (T)	I + T	Calo % del valore iniziale
96	Carpi	Lungo	512	418	930	18,35
97	Forli	Breve	200	63	263	68,5
97	Parma	Lungo *	3219	1618	4837	49,73
97	Carpi	Lungo *	745	365	1110	51,00
97	S. Felice sul Panaro	Lungo **	280	100	380	64,28
<b>Totali di colonna</b>			<b>4956</b>	<b>2564</b>	<b>7520</b>	<b>48,26</b>

Analisi generale (4 gradi di libertà (GL) :  $\chi^2 = 72,623217$ ,  $P < 0,001$

\* Inoltre, grosso centro

\*\* Inoltre, piccolo centro

randagi in ambiente urbano, attraverso un effetto di riduzione dell'ovodeposizione di uova feconde, in pieno accordo con quanto già rilevato nel corso di osservazioni su colombi in cattività e in ambiente urbano.

b) La riduzione delle popolazioni di colombi randagi in ambiente urbano si realizza soprattutto a carico dei "novelli", ossia dei colombi "dell'anno", mentre la popolazione "adulta" è modulata solamente dal turn-over fisiologico delle popolazioni di colombi randagi.

c) La mortalità nei singoli branchi, benchè sorvegliata e monitorata attentamente nel corso della prova e nel successivo e protratto periodo di osservazione, si è mantenuta su valori del tutto normali per la specie e per le rispettive condizioni ambientali.

d) La provata efficacia della nicarbazina nel controllo delle nascite di popolazioni inurbate di colombi randagi, associata alla sua altrettanto provata sicurezza di impiego per gli animali, gli esseri umani e l'ambiente, consentono di proporre l'impiego nel controllo dei problemi igienico-sanitari, urbanistici di protezione ambientale, associati alla pullulazione incontrollata dei colombi randagi in città.

e) L'effetto dell'interferenza della nicarbazina sulla funzione riproduttiva dei colombi, infine, è confrontabile (ed in qualche caso superiore) a quello prodotto da altre sostanze (azacolesterolo, busulfan, ecc.) già in uso o proposte per il controllo delle popolazioni aviarie inurbate.

**RESUME** - Les AA. reportent sur les resultats positifs observés avec l'utilisation de la nicarbazine pour controler la reproduction des pigeons sauvages de cité.

**SUMMARY** - The AA refer about the positive results of the treatment of wild urban pigeons with nicarbazine for the control of their reproduction.

### *Bibliografia*

ASSESSORATO ALLA SOLIDARIETÀ E SERVIZI SOCIO-SANITARI DEL COMUNE DI FIRENZE : "Il colombo di città, biologia e contenimento". ed. Comune Aperto, Firenze, 1997.

AZIENDA UNITÀ SANITARIA LOCALE DI PARMA: "L'andamento delle malattie infettive nell'USL 4 negli anni 1985-1991". Quaderni della prevenzione, 1992.

AZIENDA UNITÀ SANITARIA LOCALE DI PARMA : "Le malattie infettive nel territorio dell'USL 4 anno 1992". Quaderni della prevenzione, 1993.

BALDACCINI N.E. : "Il colombo come vettore di agenti infettivi e parassitari". In: Atti del 2° Convegno Internazionale " Malattie infettive nell' Arco Alpino", Siusi 21-23 marzo, Provincia Autonoma di Bolzano, 1991.

BALDACCINI N.E. : "Inurbamento: processo attivo alla ricerca di spazi da colonizzare". In: Atti del Convegno "Il controllo delle popolazioni ornitiche sinantropiche (piccioni e storni) : problemi e prospettive", Roma 10-11 ottobre 1993, Istituto Superiore di Sanità, 2-4, 1996.

- BALDACCINI N.E.: "Considerazioni biologiche e comportamentali sul colombo in città." Giornata di studio "Piccioni in città", Siena 16 marzo, Comune di Siena, 9-19, 1984.
- BALLARINI G. : "Linee d'intervento sulle popolazioni di colombi in città". Giornata di studio "Piccioni in città", Siena, Comune di Siena, 69-88, 1984.
- BALLARINI G., BALDACCINI N.E., PEZZA F. : "Colombi in città. Aspetti biologici, sanitari e giuridici. Metodologie di controllo". Istituto Nazionale di biologia della Selvaggina, Documenti Tecnici, 6, 1-58, 1989.
- BARONI A., BURLINI C., CARAVELLO GU., FABBRIS L., GATTA M.: "La rilevazione di popolazioni di piccioni urbani per la tutela ambientale e l'igiene pubblica". 3° Conv. Inter. "Malattie infettive dell'arco alpino", Siusi allo Sciliar, 4-85, 1994.
- BIBBY C.J., BURGESS N.D. : "Bird Census Techniques". Academic Press, London, 1988.
- CARSANIGA G. : "Controllo dei colombi di città a Bolzano: analisi di un'esperienza pilota". In: Atti del convegno " Il controllo delle popolazioni ornitiche sinantropiche (piccioni e storni) : problemi e prospettive", Roma 10 -11 ottobre, Istituto Superiore di Sanità, 74-78, 1996.
- CENA A., DONDO A., PISTONE G. : " Su alcuni casi di salmonellosi nei piccioni torraioli della città di Torino". Nuovo Progresso Veterinario, 44 (8), 289-290, 1989.
- CERRI D., ANDREANI E., SALVI G., PERELLI G. : "Il piccione di città quale vettore di agenti patogeni per l'uomo e gli animali" - In: Atti del Conv. Intern. "Inquinamento Ambientale e Popolazioni Animali", Pisa 3-4 ottobre Istituto Patologia Speciale e Clinica Medica Veterinaria, Pisa, 195-203, 1989.
- CUTERI V., VALENTE C. : " Clamidiosi negli animali domestici: problematiche epidemiologiche". Archivio Veterinario Italiano, 46 (6), 233-242, 1995.
- D'ERRICO A. : "Piccioni ed antropozoonosi". Giornata di studio "Piccioni in città", Siena 16 marzo, Comune di Siena, 21-27, 1984.
- DELL'OLMO G., AGRIMI U. : "Sostanze repellenti e tossiche, dissuasori acustici e ruolo dei predatori naturali nel controllo degli uccelli sinantropici infestanti : esperienze e prospettive". In: Atti del convegno "Il controllo delle popolazioni ornitiche sinantropiche (piccioni e storni) : problemi e prospettive", Roma 10 -11 ottobre, Istituto Superiore di Sanità , 94-100, 1996.
- GELATIA. : "Esperienze di controllo delle popolazioni urbane di colombi con nicarbazina". In: Atti del Convegno: " Colombi e storni: controllo e gestione", Modena 15 dicembre, 2000.
- FERRARO F., NISOLI C., MAFFEO G., BALLABIO R. : "Effetti della somministrazione di un inibitore prolattinico nei piccioni". O. & D.V., 13 (11), 49, 1992.
- FORLANI CONTI M. : "Inquinamento e restauro". Giornata di studio "Piccioni in città", Siena 16 marzo, Comune di Siena, 53-57, 1984.
- HUGHES BL., JONES JE., TOLER JE., SOLIS JE., CASTALDO DJ. : "Effects of exposing broiler breeders to nicarbazin contaminated feed". Poultry Science, 70 (3), 476-482, 1991.

- HURWITZ S., BORNSTEIN S., LEV Y. : “ Some responses of laying hens to induced arrest of egg production”. Poultry Science, 54 (2), 415-422, 1975.
- JAMES L. SMITH : “Arthritis, Guillain-Barrè Syndrome, and other sequelae of *Campylobacter jejuni*”. Journal of food protection, 58, 1153-1170, 1995.
- MANTOVANI A. : “ Uccelli urbani e Sanità pubblica veterinaria”. In: Atti del Convegno “Il controllo delle popolazioni ornitiche sinantropiche (piccioni e storni) : problemi e prospettive”, Roma 10-11 ottobre, Istituto Superiore di Sanità, 60-64, 1996.
- MARTELLI P., BONATI L., GELATI A., FERRARESI M., MONTELLA L., CABASSI E., ZANNETTI G. : “Effetti della nicarbazina sull’attività riproduttiva del colombo”. Atti SISVet, 47, 1283, 1993.
- MENINI L., CONETTINI., DE VITTOR GL., GUSPERTI G., POCOBELLI M., SANSONI L., TOFFALI P. : “ Interventi di controllo sanitario e di sterilizzazione sulla popolazione di *Columba Livia* della città di Verona”. O. & D.V., 10, 37-42, 1994.
- PAPPARELLA V. : “Pericolosità dei colombi nelle aree urbane: Inquinamento e popolazioni animali”. Atti del Conv. Inter. su “Inquinamento ambientale e popolazioni animali”, Pisa 3-4 ottobre, Italia, 1989.
- PICCOLI L., BERZERO R., CRESCENTE MD., CAPELLI G. : “Presenza di *Campylobacter* e *Salmonella* in escrementi di colombo (*Columba Livia* forma domestica ) nella città di Venezia”. O. & D.V., 15 (12), 53-56, 1994.
- PONGHELLINI M. : “Ricerche sui colombi catturati nella città di Parma: problemi sulla salute pubblica”. Tesi, Scuola di Specializzazione in Tecnologia avicola e Patologia aviaria, Napoli, 1996.
- ROSSI G. : “Effetti biologici degli ultrasuoni”. Giornata di studio “Piccioni in città”, Siena 16 marzo, Comune di Siena, 59-63, 1984.
- SIROCCHI A. : “ Il servizio internazionale disinfezione e disinfestazione nel controllo della fauna ornitica sinantropica”. In: Atti del convegno “Il controllo delle popolazioni ornitiche sinantropiche (piccioni e storni) : problemi e prospettive”, Roma 10-11 ottobre, Istituto Superiore di Sanità, 65-66, 1996.
- SOLDATI G., PAVESI M., FONTANA M.C., GELMINI L., PONGOLINI S., CRISTONI P.P. : “Determinazione della prevalenza di alcuni agenti eziologici in piccioni di cattura della città di Modena”. Ricerche di Biologia della Selvaggina, 24, 324, 1994.
- VALFRÈ F., MORETTI V.M., MACRÌ A., DE FILIP G. : “Nicarbazina: impiego nell’alimentazione dei broilers e valutazione dei residui”. O. & D.V., 13 (10), 11, 1992.
- ZANNETTI G., FERRARESI M., GELATI A., FERRI M. : “Effetti della Nicarbazina sull’attività riproduttiva del colombo: nota preliminare su esperienze di campo”. In: Atti del I° Conv. Naz. sulla Fauna Urbana, Roma, 122, 1997.

## IDENTIFICAZIONE E SALVAGUARDIA GENETICA DELLE RAZZE AVICOLE ITALIANE

Alessio Zanon <sup>(1)(2)</sup>, Alberto Sabbioni <sup>(1)</sup>

### *Introduzione*

L'Italia presentava, fino a pochi decenni fa, un'ampia diversità di razze e popolazioni di animali domestici, formatasi e consolidatasi nel corso dei secoli, favorita da una diversità ambientale particolarmente accentuata. Basta infatti pensare agli ambienti di macchia mediterranea delle zone centrali e meridionali, alle zone più aride insulari, alle zone lacustri e paludose della Pianura Padana, alle fertili pianure alluvionali, alle zone collinari appenniniche fino ai pascoli alpini. A tutto ciò va sommata una storia di grandi migrazioni di popolazioni umane e animali, che ha interessato a più riprese la nostra penisola. La progressiva retrazione delle terre utilizzate a fini agricoli, nonché il minor impiego di forze umane in agricoltura, da ricollegare in maggior parte ai processi di industrializzazione e standardizzazione dei sistemi produttivi, sta tuttavia provocando un forte impoverimento di questa biodiversità; una buona parte delle razze presenti fino alla metà del secolo scorso con elevati numeri di capi, oggi sono rappresentate da poche decine o qualche centinaio di animali e sono inequivocabilmente a rischio di estinzione.

Il processo di impoverimento del numero e della consistenza delle razze autoctone ha subito una netta accelerazione negli ultimi anni; questo forse anche in relazione allo spopolamento delle aree interne collinari e montuose, oltre che ai notevoli progressi nel campo dell'alimentazione e della tecnica di allevamento degli animali osservati nelle aree più favorite dal punto di vista zootecnico. Ciò ha premiato in particolare le razze cosmopolite e a grande diffusione, il cui prototipo potrebbe essere rappresentato, ad esempio, dalla razza bovina Frisona, divenuta in poco meno di un secolo il modello di bovino da latte, che hanno proseguito il loro cammino di espansione geografica, finendo per minacciare anche le piccole realtà ancora presenti.

È indubbio che grandi meriti vadano dati al progresso genetico, che ha ormai intrapreso una strada difficilmente compatibile con quella delle razze minori o a limitata diffusione. Pur tuttavia sembra possibile identificare ancora alcuni obiettivi, che giustifichino la salvaguardia delle razze di animali domestici in via di estinzione.

Tutte queste finalità possono sinteticamente essere riassunte come segue:

- promuovere la zootecnia estensiva nelle regioni marginali, dove non risulta conveniente applicare le tecniche moderne di alimentazione e stabulazione. A tale

---

(1) Dipartimento di Produzioni Animali, Biotecnologie Veterinarie, Qualità e Sicurezza degli Alimenti - Università degli Studi - 43100 Parma. Il lavoro spetta in parti uguali agli Autori.

(2) Indirizzo per corrispondenza - *Corresponding Author*: [zanonalessio@hotmail.com](mailto:zanonalessio@hotmail.com)

riguardo ricordiamo come alcune razze siano componenti di ecosistemi di interesse di salvaguardia e quindi il loro mantenimento abbia un preciso valore di gestione ambientale (Pagnacco, 1997);

- mantenere l'espressione del patrimonio culturale umano che le razze autoctone conservano in sé; tutto ciò inteso come tradizioni legate al sistema agrozootecnico, testimonianza storica dell'adattamento delle popolazioni umane a realtà peculiari del territorio, ricostruzione storica di contatti e scambi di merci e animali avvenuti con popoli lontani, riconoscimento delle capacità di plasmare attraverso un processo selettivo elementare razze con caratteristiche estremamente pregevoli;
- evitare la perdita di materiale genetico, non solo come singoli geni, ma anche come combinazioni geniche, prima che questo sia stato convenientemente ed esaurientemente valutato, nell'ipotesi di soddisfare future esigenze produttive (ad esempio: cambiamenti nei fabbisogni dell'alimentazione umana, negli ambienti, nelle condizioni e negli obiettivi di allevamento);
- mantenere materiale genetico potenzialmente resistente ad epidemie improvvise.

Due sono le strategie di salvaguardia genetica generalmente proposte: *ex situ*, rappresentato dalla conservazione di materiale genetico sotto forma aploide (materiale seminale, ovuli), diploide (embrioni) o di sequenze di DNA e dalla conservazione di animali vivi presso giardini zoologici, parchi naturali, fattorie sperimentali o altri enti; *in situ*, consistente nel mantenimento della razza all'interno del sistema di produzione zootecnica, ossia nel suo contesto ambientale, attraverso la valorizzazione delle sue caratteristiche produttive. È evidente che quest'ultima strategia presenta il vantaggio di approfondire le conoscenze, spesso oggi scarse, sul significato di una determinata risorsa genetica, attraverso il suo continuo impiego zootecnico; favorisce, inoltre, interventi di sviluppo socio economico in aree svantaggiate, dove generalmente si osserva la maggior differenziazione in razze. Tutto ciò consente indirettamente anche la tutela della diversità vegetale, paesaggistica e culturale, associata all'allevamento di molte razze locali. In un'ottica generale l'obiettivo della metodologia *in situ* è la salvaguardia della diversità nella sua dinamica evolutiva (Pagnacco, 1997).

Il primo problema da affrontare, quando ci si occupa di una piccola popolazione, è senz'altro il grado di consanguineità presente in essa. Si deve ricordare infatti che la consanguineità riduce la variabilità genetica e quindi la capacità di adattamento all'ambiente, inducendo un effetto depressivo su alcuni caratteri produttivi e riproduttivi a bassa ereditabilità. A tutto ciò va ad aggiungersi l'inevitabile procedere della deriva genetica che, andando a fissare un allele, provoca di riflesso la perdita dell'altro. Generalmente per cercare di rallentare, per quanto possibile, gli effetti deleteri della consanguineità vengono proposti i cosiddetti "modelli di gestione genetica". Tali modelli prevedono tre strategie, perfettamente applicabili anche in avicoltura: la massimizzazione del numero effettivo di popolazione, la minimizzazione della parentela fra i riproduttori e la pianificazione degli accoppiamenti. Il primo tende a portare il numero dei riproduttori maschi (generalmente più ridotto) al punto più elevato possibile, idealmente il più vicino al numero delle femmine. Il secondo, come di recente dimostrato da simulazioni al computer, afferma che è possibile ridurre il coefficiente di consanguineità scegliendo ad ogni generazione riproduttori sulla base

dei loro rapporti di parentela. Tutto ciò viene concretizzato nella pianificazione degli accoppiamenti, strategia a breve termine, che ritarda la consanguineità piuttosto che diminuirne il tasso di incremento.

Esistono numerose possibilità di intervento sulle razze ritenute a rischio di estinzione. Si ritiene comunque opportuno proporre un protocollo di intervento in grado di standardizzare la procedura operativa. Allo scopo sembra utile seguire i punti sotto elencati:

- identificazione corretta del gruppo etnico, attraverso un'indagine bibliografica e iconografica, completata da una indagine storica (volta a tracciare l'evoluzione della razza e a stabilirne l'autenticità);
- indagine parallela sul territorio e sugli animali;
- valutazione del grado di purezza genetica (uniformità dei soggetti, trasmissione dei caratteri somatici);
- censimento degli animali e loro ripartizione in classi di età (con l'obiettivo di identificare i percorsi selettivi attuabili sulla popolazione);
- scelta dei riproduttori in base alla parentela e alla corrispondenza alle caratteristiche di razza (creazione di nuclei di riproduttori);
- moltiplicazione intensa entro i nuclei per aumentare la numerosità in ragione degli effettivi di popolazione;
- selezione (il grado di selezione e le finalità vengono valutate tenendo conto del numero degli effettivi);
- distribuzione dei riproduttori sul territorio (preferibilmente nelle aree da essi occupate tradizionalmente);
- formazione tecnica degli allevatori mediante corsi, seminari ecc. (questo è necessario in quanto spesso si occupano di conservazione allevatori non adeguatamente preparati alla valutazione morfologica e funzionale degli animali, che possono, con errati programmi di riproduzione, vanificare gli scopi della tutela);
- applicazione dei modelli di gestione genetica, precedentemente accennati, sotto la supervisione di un organo di controllo.

Con riferimento in particolare alla situazione in avicoltura, da più parti è stata ipotizzata la creazione di centri specializzati nella conservazione delle razze; a più riprese negli ultimi venti anni, grazie all'interessamento di numerosi ricercatori (Arduin, 1991, 1992b, 1996b; Fracanzani, 1982, 1985b; Giavarini, 1986b; Giordani, 1975), si istituirono conservatori per le razze avicole che, con alterne vicende, furono in grado di mantenerne un certo numero. Particolare non trascurabile delle specie avicole di interesse zootecnico è l'estrema facilità di spostamento degli animali, che è stata all'origine della formazione di nuclei riproduttivi anche molto lontano dalla zona tradizionalmente occupata. A tutto ciò va ad aggiungersi la particolare dinamica riproduttiva, che permette fluttuazioni di popolazione estremamente accentuate, al contrario di tutto quello che si verifica in altre specie zootecniche, nelle quali sono necessari anni per operare incisivamente sugli effettivi di popolazione; per contro, le pratiche di incrocio sono in grado brevemente di snaturare una razza.

Scopo del presente lavoro è stato quello di raccogliere in forma ordinata un materiale disperso in pubblicazioni anche particolarmente datate, in modo da renderlo disponibile a quanti, studiosi o semplici appassionati, intendano recuperare, dal punto di vista genetico, popolazioni avicole legate a zone geografiche precise o tra-

dizionalmente associate a particolari produzioni, al fine di ottenere un recupero zootecnico globale.

### *Materiali e metodi*

La metodologia utilizzata nel presente lavoro ha optato per una identificazione delle singole razze avicole distinte per specie, attraverso la visione di un'estesa bibliografia, in grado di chiarire, per quanto possibile, le molteplici realtà etnologiche del nostro Paese. Queste sono quindi state studiate nei loro aspetti morfologici e nelle caratteristiche produttive, sinteticamente raccolti nelle tabelle da 1 a 8. La consistenza è stata definita ricorrendo, piuttosto che a numeri, ad attributi (ampiamente diffusa, diffusa, scarsamente diffusa, minacciata, estinta), sicuramente meno precisi ma meglio adattabili ad una realtà che può presentare oscillazioni, anche sensibili, nell'arco di poche generazioni. Alcune razze, considerate estinte, sono attualmente oggetto di progetti di recupero da parte di allevatori, mediante l'applicazione di opportuni incroci; tali casi sono riportati nelle tabelle. Inoltre sono state indicate le razze in possesso di standard, come pure quelle inserite in progetti di tutela, finanziati, in genere, da enti locali.

In termini generali alcune razze presentate potrebbero essere ritenute non pienamente in accordo con il termine di "razza autoctona"; questo perché nel processo di formazione delle razze avicole possono intervenire taluni aspetti peculiari, quali l'estrema velocità di riproduzione e la facilità di spostamento di riproduttori appartenenti a razze straniere.

### *Risultati e discussione*

Con riferimento alla distribuzione geografica delle popolazioni studiate, si assiste ad una netta distinzione tra razze dell'Italia settentrionale e centrale e razze dell'Italia meridionale. In particolare, per quanto riguarda i polli, l'Italia settentrionale e centrale presentavano e presentano tuttora alcune razze "primitive", prive di standard, naturalmente in numero limitato rispetto a quelle "secondarie" (c.d. razze "standardizzate"). Esiste poi un certo numero di razze "sintetiche" (provenienti dall'incrocio tra razze secondarie o tra razze secondarie e primitive). Per quanto riguarda invece l'Italia meridionale, le popolazioni erano per lo più costituite da razze primitive che, salvo l'eccezione della Siciliana (recentemente oggetto di applicazione di un apposito standard), sono oggi ritenute tutte estinte. Le razze di faraone, oche e anatre risultano invece di diffusione esclusiva nell'Italia settentrionale, mentre per il tacchino, oltre a quelle allevate al Nord, esisteva un limitatissimo numero di razze nel Sud (province di Benevento e di Avellino).

#### *Anatre (gen. *Anas* e *Chairina*).*

La ricerca, nell'ambito della identificazione delle varie razze di anatre presenti sul territorio italiano, ha messo in evidenza come queste si concentrino esclusivamente in alcune regioni del Nord (Veneto, Lombardia, Friuli), favorite in questo tipo di allevamento dalla presenza di corsi d'acqua e vaste zone allagate per la coltivazione del

riso. Purtroppo il cospicuo numero di razze un tempo presenti si è notevolmente ridotto, essendo intervenuti nel sistema agricolo tradizionali mutamenti tali da far venire meno i presupposti per un allevamento redditizio, se non facendo ricorso a sistemi di tipo intensivo. Nella tabella n. 1 vengono sinteticamente descritte le razze autoctone. Nella stessa tabella, il termine “portamento orizzontale” si riferisce alla particolare postura degli animali specializzati per la produzione di carne, dotati di masse pettorali notevoli e con depositi adiposi specialmente nella zona ventrale.

Faraone (gen. *Numida*).

La ricerca ha permesso di porre in evidenza, per quanto riguarda questa specie, una situazione diversa da quella della precedente, rappresentata da un più elevato numero di razze presenti negli allevamenti rurali e da consistenze a livelli meno preoccupanti (tabella n.2). Bisogna infatti tenere conto che la faraona, mantenendo tuttora spiccate caratteristiche di rusticità e un accentuato gradimento da parte del consumatore, per le intrinseche caratteristiche qualitative delle carni, sembra molto indicata come animale adatto al sistema di allevamento su terreni marginali. Il notevole numero di razze di faraone si deve alle ricerche di Ghigi, il quale, durante il secolo scorso, si dedicò con passione alla selezione di soggetti di tale specie. L'origine delle razze di faraone italiane è limitata a poche regioni settentrionali, votate tradizionalmente all'allevamento avicolo, quali il Veneto e l'Emilia Romagna.

Polli (gen. *Gallus*).

Per quanto riguarda questa specie avicola, i risultati sono stati sorprendenti, sia per il numero di razze identificate, che allinea l'Italia ad altri stati europei (forse più attenti alle tematiche di conservazione), sia per il crescente interesse in ambito locale.

Sorprendente è stata pure la sensibilità di alcune istituzioni, che hanno avviato programmi di recupero ottenendo in poco tempo risultati degni di considerazione (Arduin, 1991, 1992b, 1996b, 1998; Fracanzani, 1982; Pignatelli, 2000, 2001; Giavarini, 1986b).

Il patrimonio di razze italiane, pur tenendo conto di tutto ciò, rimane comunque tuttora ai minimi storici; inoltre, la stretta consanguineità, cui sono state sottoposte le singole razze, ha portato le poche sopravvissute ad una progressiva degenerazione delle caratteristiche produttive, evidenziabile in una diminuzione generale del peso vivo. Per tali motivi, alcune razze, note un tempo per l'attitudine all'ingrassamento, sono attualmente declassate a una categoria inferiore.

Di riduzione del progresso genetico si può pure parlare per le razze ovaiole, nelle quali la deposizione e il peso delle uova sono regredite notevolmente rispetto ai valori riscontrati in passato, pur in presenza di tecniche alimentari e di allevamento migliori.

Visto l'ingente numero di razze analizzate si è optato di suddividerle in quattro tabelle (nn. 3, 4, 5, 6) in relazione alla taglia corporea (tipo Bantam o nano, leggero, intermedio, pesante). Questa classificazione, che dà un immediato quadro delle razze italiane, non tiene però conto dell'origine delle stesse ed è pertanto da considerare semplicemente indicativa.

Tabella n. 1 - Descrizione delle razze di anatra (genere Anas e Chairina).

<b>RAZZA</b>	<b>REGIONE DI ORIGINE</b>	<b>CARATTERI MORFOLOGICI</b>	<b>PARAMETRI PRODUTTIVI</b>	<b>STATO DELLA POPOLAZIONE</b>
<b>Genere Anas</b>				
<b>BERGAMASCA</b>	Lombardia	Livrea bianca, nera, pezzata; portamento orizzontale	-	Estinta
<b>FRIULANA</b>	Friuli	Livrea nera, azzurra, blu, con vistosa bavetta bianca. Remiganti bianche.	Peso 2,5 kg	Estinta
<b>GERMANATA VENETA</b>	Veneto	Livrea simile a quella del Germano Reale. Portamento orizzontale	Peso: m. 3 kg; f. 2,7 kg	Minacciata
<b>MIGNON</b>	Veneto	Livrea bianco puro, becco giallo, tarsi aranciati	Peso 0,8 kg	Scarsamente diffusa
<b>PIACENTINA</b>	Emilia	Livree di vari colori	-	Estinta
<b>POLESANA BIANCA</b>	Veneto	Livrea bianca a riflessi citrini, becco giallo-arancio. Portamento orizzontale	Peso: m. 3,5 kg; f. 3,2 kg	Estinta
<b>POLESANA LILLA</b>	Veneto	Livrea lilla-cinereo, becco giallo	Peso 3 kg	Estinta
<b>VICENTINA</b>	Veneto	Livree di vari colori	-	Estinta
<b>Genere Chairina</b>				
<b>BARBERIA AUTOCTONA</b>	Nord Italia	Livrea nera, blu ardesia, bruna e pezzata, aspetto longilineo, caruncole maculate di nero	Peso: m. 3,5 kg; f. 2,5 kg	Minacciata

Riferimenti bibliografici: 7, 10, 12, 13, 15, 20, 23, 25, 29, 41, 79, 92, 93, 94, 95.

Tabella n. 2 - Descrizione delle razze di faraone (gen. Numida).

<b>RAZZA</b>	<b>REGIONE DI ORIGINE</b>	<b>CARATTERI MORFOLOGICI</b>	<b>PARAMETRI PRODUTTIVI</b>	<b>STATO DELLA POPOLAZIONE</b>
<b>AZZURRA GHIGI (*)</b>	Veneto	Livrea azzurra a perlatura ridotta, tarsi da grigio chiaro ad arancio pallido.	-	Minacciata
<b>BIANCA ALBINA</b>	Nord Italia	Livrea bianca priva di perlatura, pelle non pigmentata, tarsi arancione	Peso: 1,5-1,8 kg	Estinta (ma in via di ricostituzione)
<b>BLUETTA (*)</b>	Veneto	Livrea blu lavanda sia a perlatura completa che ridotta, tarsi da grigio chiaro ad arancio pallido.	-	Estinta (ma in via di ricostituzione)
<b>CAMOSCIATA (*)</b>	Veneto	Livrea bianco giallastra con evidenti perlature, tarsi da grigio chiaro ad arancio pallido.	Peso: 1,8-2 kg	Scarsamente diffusa
<b>FULVETTA</b>	Veneto	Livrea bruno isabella priva di perle, tarsi da grigio chiaro ad arancio pallido.	-	Estinta (ma in via di ricostituzione)
<b>GRIGIA COMUNE (*)</b>	Nord Italia	Livrea grigio nerastra fittamente perlata, collo con riflessi porporini, tarsi grigio nero	Peso: >2 kg (alcuni ceppi)	Ampiamente diffusa
<b>GRIGIA DISSIMILE</b>	Veneto	Livrea grigio nerastra fittamente perlata compreso il collo, tarsi grigio nero	-	Estinta
<b>LILLA (*)</b>	Nord Italia	Livrea grigio perla fittamente perlata, tarsi grigio nero	Peso: 1,8-2 kg	Scarsamente diffusa
<b>MOSAICO</b>	Nord Italia	Livrea petto bianco dorso colorato, tarsi neri maculati di giallo	-	Estinta
<b>PAONATA (*)</b>	Veneto	Livrea nero violetta a perlatura ridotta, tarsi grigio nero	Peso: 1,8-2 kg	Scarsamente diffusa
<b>PEZZATA</b>	Nord Italia	Livrea irregolarmente pezzata di bianco, tarsi neri maculati di giallo	-	Estinta (ma in via di ricostituzione)

(\*): Razza con standard.

Riferimenti bibliografici: 7, 8, 10, 13, 15, 20, 25, 27, 28, 29, 35, 36, 37, 39, 40, 41, 46, 47, 87, 92, 93, 94.

Tabella n. 3 - Descrizione delle razze di polli (gen. Gallus) di tipo Bantam (nani).

<b>RAZZA</b>	<b>REGIONE DI ORIGINE</b>	<b>CARATTERI MORFOLOGICI</b>	<b>STATO DELLA POPOLAZIONE</b>
<b>CIUFFINE GHIGI</b>	Veneto	Livree nera, bianca, Ancona, argentata, dorata; cresta assente o a cornetti, orecchioni bianchi, pelle bianca, tarsi scuri; presenza di ciuffo	Estinta
<b>MERICANEL DELLA BRIANZA (*)</b>	Lombardia	Livree collo oro, gialla coda nera, dorata ecc.; cresta semplice, orecchioni rossi, pelle e tarsi gialli	Diffusa
<b>MUGELLESE</b>	Toscana	Livree di vari colori, cresta semplice, pelle e tarsi di vari colori	Diffusa
<b>PÈPOI</b>	Veneto	Livree collo oro, fromentina, cresta semplice orecchioni rossi, pelle gialla, tarsi ardesia	Diffusa

(\*): Razza con standard.

Riferimenti bibliografici: 4, 7, 9, 16.

Tabella n. 4 - Descrizione delle razze di polli (gen. Gallus) di tipo leggero.

RAZZA	REGIONE DI ORIGINE	CARATTERI MORFOLOGICI	STATO DELLA POPOLAZIONE
ANCONA (*)	Marche	Livrea nera picchiettata di bianco, cresta semplice orecchioni bianchi, pelle gialla, tarsi gialli maculati.	Diffusa
BRIANZOLA	Lombardia	Livrea argento barrata, cresta semplice orecchioni bianchi, pelle bianca tarsi bluastri	Estinta
CAPPELLONA	Veneto	Livrea nera, cresta a coppa con piccolo ciuffo occipitale, orecchioni bianchi, pelle bianca, tarsi scuri.	Estinta
DORATA DI LONIGO	Veneto	Livrea dorata, cresta semplice orecchioni bianchi pelle e tarsi gialli	Estinta
FIDENTINA PERNICIATA	Emilia-Romagna	Livrea perniciata, cresta semplice, orecchioni bianchi, pelle e tarsi gialli	Estinta
FOGGIANA CUCULA	Puglia	Livrea sparviero, cresta semplice, orecchioni bianchi, pelle e tarsi gialli	Estinta
FRIULANA	Friuli	Livrea dorata, cresta semplice, orecchioni bianchi, pelle e tarsi gialli	Estinta
LAMOTTA	?	Livrea nera, bianca, cresta semplice, orecchioni bianchi, tarsi bluastri	Estinta
LA NANA	Veneto	Livrea nera ,cresta semplice, orecchioni bianchi tarsi corti scuri, pelle bianca	Estinta
LECCESE	Puglia	Livrea perniciata, fromentina, cresta semplice orecchioni bianchi, pelle e tarsi gialli	Estinta
LIVORNESE (*)	Toscana	Livree varie, cresta semplice orecchioni bianchi, pelle e tarsi gialli	Diffusa
MEGIAROLA	Veneto	Livree varie, cresta semplice orecchioni bianchi, pelle e tarsi gialli. Coda a scoiattolo	Estinta
MILLEFIORI DI LONIGO	Veneto	Livrea millefiori, cresta semplice, orecchioni bianchi, pelle e tarsi gialli	Estinta
MODENESE	Emilia-Romagna	Livree varie, cresta semplice orecchioni bianchi, pelle e tarsi gialli	Estinta
MONNEZZARA	Campania	Livree di vario colore, cresta semplice orecchioni bianchi, pelle e tarsi gialli	Estinta
NERA DI CAPITANATA	Puglia	Livrea nera, cresta semplice orecchioni bianchi pelle bianca ,tarsi neri	Estinta
PADOVANA A GRAN CIUFFO (*)	Veneto	Livree varie, cresta assente, orecchioni bianchi, ciuffo, barba e favoriti, pelle bianca, tarsi blu ardesia	Scarsamente diffusa (**)
PADOVANA A PENNA RICCIA	Veneto	Livree varie, piumaggio arricciato, cresta assente, orecchioni bianchi, ciuffo, barba e favoriti, pelle bianca, tarsi blu ardesia	Minacciata
PADOVANA LIONATA	Veneto	Livrea gialla a coda nera, cresta semplice, orecchioni bianchi, pelle e tarsi gialli	Estinta
PENTADATTILA	Veneto	Livrea argentata, cresta semplice, orecchioni bianchi, pelle bianca, pentadattila	Estinta
ROMAGNOLA	Emilia-Romagna	Livrea argentata, grigia a fiocchi neri, cresta semplice, orecchioni bianchi, pelle gialla, tarsi variabili	Estinta
SICILIANA (*)	Sicilia	Livrea collo oro, bianca, cresta a coppa, orecchioni rossi , pelle giallastra, tarsi verde sal ice	Scarsamente diffusa
TRENTINA	Trentino	Livrea dorata, bianca, cresta semplice, orecchioni bianchi, pelle e tarsi gialli	Minacciata
VALDARNO (*)	Toscana	Livrea nera, cresta semplice, orecchioni bianchi, pelle bianca ,tarsi neri	Estinta (ma in via di ricostituzione) (**)

(\*): Razza con standard; (\*\*): Razza oggetto di finanziamenti per il recupero genetico.

Riferimenti bibliografici: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 18, 19, 21, 24, 25, 30, 31, 32, 33, 34, 38, 41, 42, 43, 44, 49, 50, 51, 52, 58, 59 60, 61, 62, 63, 66, 67, 68, 69, 71, 84, 85, 86, 88, 90, 91, 92, 93, 94.

Tabella n. 5 - Descrizione delle razze di polli (gen. Gallus) di tipo intermedio.

RAZZA	REGIONE DI ORIGINE	CARATTERI MORFOLOGICI	STATO DELLA POPOLAZIONE
<b>ARGENTATA DI ROVIGO</b>	Veneto	Livrea argentata, cresta semplice orecchioni bianchi pelle e tarsi gialli	Estinta
<b>BIANCA DI SALUZZO O DI CAVUR</b>	Piemonte	Livrea bianca ,cresta semplice, orecchioni bianco-giallastri venati di rosso pelle e tarsi gialli	Scarsamente diffusa (**)
<b>BIONDA PIEMONTESE</b>	Piemonte	Livrea gialla a coda nera, cresta semplice, orecchioni bianco-giallastri venati di rosso o rossi, pelle e tarsi gialli	Scarsamente diffusa (**)
<b>BOFFA</b>	Veneto	Livrea bianca e avana, cresta semplice, orecchioni bianchi, barba e favoriti, pelle gialla tarsi di pigmentazione varia.	Estinta
<b>COLLO NUDO ITALIANA</b>	Veneto	Livrea bianca, dorata, nera, cresta semplice, orecchioni bianchi, collo nudo, pelle e tarsi gialli	Minacciata
<b>CROTTONE</b>	Emilia-Romagna	Livree variabili cresta semplice impennamento tardivo	Estinta
<b>CUCCOLA</b>	Veneto	Livrea sparviero, cresta semplice, orecchioni bianchi, pelle e tarsi gialli	Estinta
<b>ERMELLINATA DI LUCCA</b>	Toscana	Livrea ermellinata, cresta semplice, orecchioni bianchi venati di rosso, pelle gialla tarsi variabili	Estinta
<b>ERMELLINATA DI ROVIGO</b>	Veneto	Livrea ermellinata, cresta semplice, orecchioni rossi, pelle e tarsi gialli	Diffusa
<b>GALLINA CON GRANATELLO</b>	Veneto	Livrea nera, cresta semplice, ciuffo di setole sul petto	Estinta
<b>GROTA</b>	Veneto	Livree variabili cresta semplice; impennamento tardivo	Estinta
<b>MEGIAROLA MIGLIORATA</b>	Veneto	Livrea dorata, bianca, nera ecc., cresta semplice, orecchioni bianchi pelle e tarsi gialli	Estinta
<b>MILLEFIORI PIEMONTESE</b>	Piemonte	Livrea nera macchiettata di bianco, cresta semplice, orecchioni rossi, pelle e tarsi gialli	Estinta
<b>POLVERARA (*)</b>	Veneto	Livrea nera, bianca, cresta a cornetti, orecchioni bianchi, ciuffo, barba e favoriti, pelle bianca, carne morata, tarsi verdi.	Minacciata (**)
<b>ROBUSTA LIONATA</b>	Veneto	Livrea gialla a coda nera, cresta semplice, orecchioni rossi, pelle e tarsi gialli	Scarsamente diffusa
<b>ROBUSTA MACULATA</b>	Veneto	Livrea bianca orlata irregolarmente di nero, cresta semplice, orecchioni rossi, pelle e tarsi gialli	Scarsamente diffusa
<b>VALDARNESE BIANCA</b>	Toscana	Livrea bianca ,cresta semplice, orecchioni bianco-giallastri, pelle e tarsi gialli; impennamento tardivo	Scarsamente diffusa (**)

(\*): Razza con standard. (\*\*): Razza oggetto di finanziamenti per il recupero genetico.

Riferimenti bibliografici: 4, 5, 6, 7, 9, 53, 54, 55, 56, 64, 65, 72, 73, 74, 75, 76, 77.

Tabella n. 6 - Descrizione delle razze di polli (gen. Gallus) di tipo pesante.

<b>RAZZA</b>	<b>REGIONE DI ORIGINE</b>	<b>CARATTERI MORFOLOGICI</b>	<b>STATO DELLA POPOLAZIONE</b>
<b>GIGANTE NERA D'ITALIA</b>	Liguria	Livrea nera, cresta semplice, orecchioni rossi, pelle bianca, tarsi scuri	Estinta
<b>GIGANTE PADOVANA</b>	Veneto	Livrea nera, bianca, brizzolata, cresta semplice, orecchioni bianchi, pelle gialla, tarsi da nero a rosei, a volte leggermente impiumati. Segnalate varietà con piccolo ciuffo e 5 dita	Estinta
<b>GROSSA DI BOLOGNA</b>	Emilia-Romagna	Livrea bianca, cucula, nera, cresta semplice, pelle e tarsi gialli	Estinta
<b>MAESTÀ 57</b>	Lombardia	Livrea bianca, cresta semplice, orecchioni rossi, pelle e tarsi gialli	Estinta
<b>MAGGI</b>	Toscana	Livrea nera difforme, cresta semplice o a pisello, orecchioni bianchi, a volte rossi, zampe rosee o, più ordinariamente, scure	Estinta
<b>MILANINO</b>	Lombardia	Livrea bianca, cresta semplice, orecchioni rossi variegati in bianco, zampe rosee	Estinta
<b>PESANTE PADOVANA</b>	Veneto	Livrea bianca, camosciata, cresta semplice, orecchioni bianchi, pelle e tarsi gialli	Estinta
<b>PIZZOLANTE</b>	Puglia	-	Estinta

Riferimenti bibliografici: 15, 48, 55, 56, 58, 59, 60, 90, 92.

Oche (gen. *Anser*).

Il numero delle razze di oche italiane (tabella n.7), pur avendo avuto una contrazione, sembra comunque mantenersi su livelli accettabili; al contrario, i parametri produttivi particolarmente pregevoli nelle nostre razze autoctone hanno subito un regresso senza paragoni nelle altre specie. L'allevamento di questo palmipede, in ragione del suo regime alimentare spiccatamente erbivoro, giustifica sicuramente l'attuale rinnovato interesse, anche in relazione alla possibilità di sfruttamento dei terreni marginali. Non è inoltre da escludere che, in un prossimo futuro, realtà oggi come oggi limitate ad altri Stati europei, quali la produzione di piumino, fegato grasso ecc., possano trovare posto anche in Italia, nel rispetto delle recenti normative comunitarie circa il benessere animale.

Tacchini (gen. *Meleagris*):

Anche il numero delle razze di tacchini italiani (tabella n.8) ha subito una contrazione; in particolare si possono ritenere estinte le razze dell'Italia meridionale, mentre sopravvive un certo numero di razze locali del Nord. Purtroppo, le caratteristiche produttive, da tempo trascurate, sono andate via via peggiorando. Pertanto le razze presenti poco differiscono per le caratteristiche di accrescimento, precocità, conformazione delle masse pettorali, risultando differenziabili quasi esclusivamente attraverso la livrea. Tutte le razze di tacchini mantengono una buona propensione alla cova e nessuna presenta problemi di fecondazione a causa della taglia. In particolare, alcune popolazioni (Castano precoce, Brianzolo) risultano costituite da un numero esiguo di individui, e necessitano di programmi di gestione particolarmente accurati.

### *Conclusioni*

L'esame delle tabelle mette in luce la presenza, storicamente accertata, di 90 razze avicole italiane, ripartite fra anatre (n.=9), faraone (n.=11), polli (n.=53), oche (n.=5) e tacchini (n.=12). Di queste, tuttavia, il 61,1% è risultata estinta, il 13,3% minacciata ed il 16,7% scarsamente diffusa; il 6,7% è oggetto di piani di intervento per la salvaguardia e solo l'8,9% presenta una numerosità tale da metterlo al riparo, per il momento, da problemi di sopravvivenza. Il 18,9% delle razze, inoltre, presenta uno standard ufficiale (AAVV, 1996). Fra le razze considerate estinte, cinque (pari al 9,1%) sono attualmente oggetto di piani di recupero genetico messi in atto da allevatori allo scopo di una ricostituzione delle stesse (Bianca Albina, Bluetta, Fulvetta e Pezzata fra le faraone; Valdarno fra i polli). Il giudizio sulla bontà di tali operazioni potrà essere formulato solo con il tempo.

La situazione, perciò, non è rosea, ed il rischio di perdere un patrimonio genetico importante è reale. Il valore di queste razze non va misurato in termini produttivi, dal momento che il confronto con quelle utilizzate negli allevamenti intensivi è perdente sotto ogni aspetto. È tuttavia utile che tale patrimonio non vada perso, ma mantenuto e valorizzato, anche sfruttando le opportunità, che, oggigiorno, sono rappresentate dal recupero dei terreni marginali, dalla zootecnia biologica, dall'agriturismo e dall'intervento pubblico, normalmente finanziato dagli Enti locali, per la salvaguardia delle popolazioni animali autoctone.

Tabella n. 7 - Descrizione delle razze di oche (gen. Anser).

<b>RAZZA</b>	<b>REGIONE DI ORIGINE</b>	<b>CARATTERI MORFOLOGICI</b>	<b>PARAMETRI PRODUTTIVI</b>	<b>STATO DELLA POPOLAZIONE</b>
<b>OCA DI LOMELLINA</b>	Lombardia	Livrea bianca fittamente maculata di grigio, occhi marroni, tarsi aranciati	Peso: m. 6-8 kg; f. 5-7 kg	Minacciata
<b>OCA GRIGIA DI PADOVA</b>	Veneto	Livrea grigia, fanone doppio occhi marroni, tarsi aranciati o carnicini	Peso: 6-7 kg	Minacciata
<b>OCA PEZZATA VENETA (*)</b>	Veneto	Livrea bianca con pezzature grigie su testa fianchi dorso coda, occhi marroni, zampe aranciate	Peso: m.6-7 kg; f.: 5-6 kg	Scarsamente diffusa
<b>OCA PIACENTINA</b>	Emilia-Romagna	Livrea bianca, occhi grigi, zampe aranciate	Peso: 5 kg	Estinta
<b>OCA ROMAGNOLA (*)</b>	Emilia-Romagna	Livrea bianca, fanone semplice occhi da grigio a blu, zampe aranciate	Peso: m. 5-6 kg; f. 4-5 kg Uova: 60-80, del peso minimo di 150 g	Scarsamente diffusa

(\*): Razze con standard.

Riferimenti bibliografici: 7, 10, 12, 13, 15, 17, 20, 25, 26, 29, 41, 70, 78, 80, 89, 92, 93, 94.

Tabella n. 8 - Descrizione delle razze di tacchini (gen. Meleagris).

<b>RAZZA</b>	<b>REGIONE DI ORIGINE</b>	<b>CARATTERI MORFOLOGICI</b>	<b>PARAMETRI PRODUTTIVI</b>	<b>STATO DELLA POPOLAZIONE</b>
<b>BRIANZOLO</b>	Lombardia	Livree varie, più comune la reticolata, caruncole spesso aranciate	Peso: m. 6 kg; f. 3-4 kg	Minacciata
<b>BRONZATO COMUNE</b>	Nord Italia	Livrea bronzata	Peso: m. 6 kg; f. 3-4 kg	Diffusa
<b>BRONZATO DEI COLLI EUGANEI</b>	Veneto	Livrea bronzata	Peso: m. 5 kg; f. 3 kg	Minacciata (**)
<b>CASTANO PRECOCE (*)</b>	Veneto	Livrea castana	Peso: m.8-10 kg; f. 5-7 kg	Minacciata (**)
<b>DI AVELLINO</b>	Campania	Livrea bianca con rare macchie scure alle remiganti	-	Estinta
<b>DI BENEVENTO</b>	Campania	Livrea rosso cupo, rosso mattone o più spesso fulvo con rare macchie nere all'estremità delle penne	-	Estinta
<b>DI PARMA E PIACENZA</b>	Emilia-Romagna	Livrea grigia	-	Estinta
<b>DI ROMAGNA</b>	Emilia-Romagna	Livree varie pelle giallastra	-	Estinta
<b>DI TREVISO</b>	Veneto	Piumaggio scuro?	-	Estinta
<b>ERMELLINATO DI ROVIGO</b>	Veneto	Livrea ermellinata	Peso: m. 10 kg; f. 4-5 kg	Scarsamente diffusa
<b>LILLA DI CORTICELLA</b>	Veneto, fissato poi in Emilia-Romagna	Livrea lilla cinereo	Peso: m.9-10 kg; f. 6-7 kg	Estinta
<b>NERO D'ITALIA (*)</b>	Lombardia	Livrea nera, tarsi nerastri	Peso: m. 4-6 kg; f. 2,5-3,5 kg	Scarsamente diffusa

(\*): Razza con standard; (\*\*): Razza oggetto di finanziamenti per il recupero genetico.

Bibliografia: 7, 8, 10, 13, 15, 20, 22, 25, 26, 39, 41, 81, 82, 83, 92, 93, 94.

In tale ottica trova posto il presente lavoro, che si prefigge lo scopo di sensibilizzare il mondo zootecnico verso specie animali sicuramente di minore impatto, rispetto ad altre, ma ugualmente meritevoli di attenzione, per il ruolo che possono giocare nel recupero ambientale ed economico di interi comprensori.

Nell'epoca della globalizzazione, auspichiamo un ritorno di interesse verso popolazioni animali integrate con il loro territorio, in possesso di un giusto equilibrio fra esigenze nutrizionali e produzione, veri serbatoi di variabilità genetica, che un giorno potrebbe rivelarsi indispensabile anche nei confronti di tipologie di produzione animale più intensive.

**Parole chiave:** salvaguardia genetica, razze, uccelli domestici

**Key words:** genetic protection, breeds, poultry

**RIASSUNTO** - Gli Autori espongono i risultati di una ricerca tesa alla identificazione delle razze avicole italiane. Sono state individuate 90 razze (9 di anatre, 11 di faraone, 53 di polli, 5 di oche e 12 di tacchini), brevemente descritte (nome, origine, morfologia, caratteri produttivi, stato della popolazione) in tabelle riassuntive. Analizzando la consistenza delle diverse razze, il 61,1% è risultato estinto, il 13,3% minacciato, il 16,7% scarsamente diffuso e solo l'8,9% diffuso. Per alcune razze è stato intrapreso un programma di salvaguardia genetica.

**SUMMARY - IDENTIFICATION AND GENETIC PROTECTION OF ITALIAN POULTRY BREEDS.**

*The Authors refer the results of a study about the identification of Italian poultry breeds. 90 breeds have been identified (9 of ducks, 11 of guinea fowls, 53 of chickens, 5 of geese and 12 of turkeys) that are briefly described (name, origin, morphology, productivity, state of the population) in tables. The 61.1% of breeds resulted actually extinct, the 13.3% threatened, the 16.7% scarcely diffused and only the 8.9% diffused. Some breeds are actually object of genetic protection plans.*

*Richiami Bibliografici*

- 1) AAVV. (1989) - American Standard of Perfection; Ed. The American Poultry Association.
- 2) AAVV. (1994a) - Deutscher Rassegeflügel-Standard, Bund Deutscher Rassegeflügelzüchter e.V.
- 3) AAVV. (1994b) - Standard SRGV, Federazione Svizzera di Avicoltura.
- 4) AAVV. (1996) - Standard Italiano delle Razze Avicole, Federazione Italiana delle Associazioni Avicole; Tipografia Artigiana, Lecco.
- 5) AAVV. (1999a) - Razza Piemontese. In Avicoltura, N.22, Editrice FIAV, Lecco.
- 6) AAVV. (1999b) - Seminario di aggiornamento, Federazione Italiana Associazioni Avicole.
- 7) Arduin M. (1991) - Razze Avicole Venete. Tipografia Riberto, Rovigo.
- 8) Arduin M. (1992a) - Faraona Tacchino Pavone. Edizioni l'Informatore Agrario, Verona.

- 9) Arduin M. (1992b) - L'allevamento familiare del pollo. Edizioni l'Informatore Agrario, Verona.
- 10) Arduin M. (1996a) - Guida illustrata all'allevamento degli avicoli di bassa corte. Vita in campagna, suppl. n°9.
- 11) Arduin M. (1996b) - Salvaguardare le razze avicole in pericolo di estinzione. In L'Informatore Agrario, N. 37, 33-34.
- 12) Arduin M. (1998) - Guida illustrata all'allevamento rurale dell'anatra e dell'oca. Vita in campagna, suppl. n°10.
- 13) Balasini D. (1995) - Zootecnica Speciale. Edagricole, Bologna.
- 14) Blanchon H. I. (1924) - Toutes les poules et leur variétés. Ed. Charls Amat, Paris.
- 15) Bonadonna T. (1950-51) - Zootecnica Speciale. Volume 3, Editore Cisalpino, Varese.
- 16) Brunoli A. (1971) - Le "Bantams". Edagricole, Bologna.
- 17) Cipriani G. (1987) - Allevare Anatre Oche Faraone Tacchini. La casa Verde Editore, Verona.
- 18) Cittadini A. (1929) - Gusci rossi o gusci bianchi. Bassa Corte, 266.
- 19) Corbellini I. (1950) - Polli e pollai. Vallardi A. Editore Milano.
- 20) Corbellini I. (1963) - Tacchini Faraone Oche Anatre Piccioni. Vallardi A. Editore, Milano.
- 21) Cornoldi G. (1948) - Pollicoltura Moderna. Edagricole, Bologna.
- 22) Cornoldi G. (1965) - Il Tacchino. Edagricole, Bologna.
- 23) Cortese M. (1931) - Anatrocoltura. Hoepli, Milano.
- 24) Cortese M. (1945) - Pollicoltura familiare e industriale. Hoepli, Milano.
- 25) Cortese M. (1978) - Enciclopedia dell'Allevatore. Hoepli, Milano.
- 26) Falaschini A., Vivarelli G. (1965) - Zootecnica Speciale. Edagricole, Bologna.
- 27) Fracanzani C. L. (1962) - La faraona domestica. Edagricole, Bologna.
- 28) Fracanzani C. L. (1971) - Sfruttamento della faraona per le uova. L'Informatore Agrario, 33.
- 29) Fracanzani C. L. (1981) - Allevamento familiare degli animali da cortile. Edagricole, Bologna.
- 30) Fracanzani C. L. (1982) - Il rilancio delle razze autoctone in avicoltura. Rivista di Avicoltura, 2, 15-17.
- 31) Fracanzani C. L. (1985a) - Tecniche di produzione animale. Liviana Editrice, Padova.
- 32) Fracanzani C. L. (1985b) - Razze domestiche in pericolo di estinzione. Rivista di Avicoltura, 9, 39-40.
- 33) Fracanzani C. L. (1996) - Il pollaio provinciale di Padova e l'Osservatorio avicolo Ugo Melloni. In Agricoltura veneta dalla tradizione alla sperimentazione, 199-205. Cop. Lett. Ed. Università Padova, Padova.

- 34) Galizzi G. (1975) - Un'anomalia a base genetica "collo nudo". Rivista di Avicoltura, 7, 57-63.
- 35) Ghigi A. (1924) - Su di una nuova razza di Faraone ottenuta sperimentalmente. Rivista di Avicoltura. 6, 23-25.
- 36) Ghigi A. (1927) - Monografia delle galline di Faraone. F. I. D. C. A., Piacenza.
- 37) Ghigi A. (1930) - Una seconda razza di faraone ottenuta sperimentalmente. Cronache Avicole, 5, 15-17.
- 38) Ghigi A. (1930) - Gli animali da cortile. Editrice Opera Nazionale, Roma.
- 39) Ghigi A. (1936) - Faraone e Tacchini. Hoepli, Milano.
- 40) Ghigi A. (1950) - La vita degli animali; UTET, Torino.
- 41) Ghigi A. (1968) - Trattato di Avicoltura. UTET, Torino.
- 42) Giavarini I. (1983) - Le Razze dei Polli. Edagricole, Bologna.
- 43) Giavarini I. (1986a) - Approfondiamo il discorso sulla razza Livornese. Rivista di Avicoltura, 11, 25-31.
- 44) Giavarini I. (1986b) - Conservatorio delle razze avicole italiane: sogno o realtà?. Rivista di Avicoltura, 5, 17-19.
- 45) Giordani G. (1975) - Le varie modalità dell'incrocio nelle specie avicole. Rivista di Avicoltura, 1, 17-25.
- 46) Golisano R. (1926) - La Gallina di Faraone. Bassa Corte, 231-234.
- 47) Golisano R. (1926) - La Gallina di Faraone. Bassa Corte, 279-283.
- 48) Gonin C. A. (1926a) - Razze pesanti o leggere. Bassa Corte, 53-54.
- 49) Gonin C. A. (1926b) - Valdarno e Bresse. Bassa Corte, 307-309.
- 50) Houwink A. (1910) - Hoenderrassen "Razze di Polli". Olanda.
- 51) Lion G. F. (1893) - Catalogo descrizione di alcune fra le principali razze, Padova.
- 52) Marley A. (1956) - Trattato di Avicoltura. Edagricole, Bologna.
- 53) Mazzon I. (1928a) - L'Esposizione Avicola di Padova. Bassa Corte, 184-185.
- 54) Mazzon I. (1928b) - Bargigli e Creste. Bassa Corte, 229-231.
- 55) Mazzon I. (1932) - Pollicoltura Padovana, 11, 10-26.
- 56) Mazzon I. (1934) - Pollicoltura Padovana. Tipografia Antoniana, Padova.
- 57) Pagnacco G. (1997) - Genetica applicata alle produzioni animali. Città Studi Edizioni, Milano.
- 58) Pascal T. (1905) - Le razze della gallina domestica. Battiato F. Editore, Catania.
- 59) Pascal T. (1915) - Manuale teorico e pratico di Avicoltura. Battiato F. Editore, Catania.
- 60) Pascal T. (1925) - Pagine sparse di Avicoltura. Battiato F. Editore, Catania.
- 61) Pasquinucci G. (1929) - Il pollo Valdarno. Bassa Corte, 120-121.
- 62) Périquet J. C. (1994) - Le grand livre des Volailles de France. Rustica Editions, Paris.

- 63) Périquet J. C. (1995) - Les Poules. Rustica Editions, Paris.
- 64) Pignattelli P. (2000) - Pollo Valdarnese. Rivista di avicoltura, 6, 7.
- 65) Pignattelli P. (2001) - Il consumatore ha scelto la Valdarno bianca. Rivista di avicoltura, 1, 12-18.
- 66) Pochini L. (1894) - Pollicoltura Moderna. Tipografia Franceschini, Firenze.
- 67) Pochini L. (1896) - Trattato Catalogo di Pollicoltura. Tipografia Franceschini, Firenze.
- 68) Pochini L. (1900) - Avicoltura Pratica Trattato Catalogo. Tipografia Franceschini, Firenze.
- 69) Pochini L. (1905) - Avicoltura Pratica. Tipografia Franceschini, Firenze.
- 70) Pozzi G. (1959) - L'allevamento dell'Oca e dell'Anatra. R. E. D. A., Roma.
- 71) Pozzi G. (1961) - Le Razze dei polli. Edagricole, Bologna.
- 72) Quilici R. (1953a) - Miglioramento della pollicoltura nel Valdarno superiore. L'Allevatore.
- 73) Quilici R. (1953b) - Pollicoltura rurale nel Valdarno superiore. L'Allevatore.
- 74) Quilici R. (1954) - Selezione pollame locale del Valdarno. L'Allevatore.
- 75) Quilici R. (1958a) - Selezione pollame Valdarno. Rivista di Avicoltura, 2.
- 76) Quilici R. (1958b) - Orientamenti selettivi. Rivista di Avicoltura, 2.
- 77) Quilici R. (1959) - Accertamenti produttivi sulla Valdarnese Bianca. Rivista di Avicoltura, 12.
- 78) Savorelli G. (1927a) - L'Oca Romagnola. Bassa Corte, 77- 80.
- 79) Savorelli G. (1927b) - Lo sfruttamento dell'anatra muta. Bassa Corte, 257-261.
- 80) Savorelli G. (1928a) - L'Oca Romagnola. Bassa Corte, 112-118.
- 81) Savorelli G. (1928b) - Il Tacchino. Bassa Corte, 222-224.
- 82) Savorelli G. (1928c) - Il Tacchino. Bassa Corte, 303-304.
- 83) Savorelli G. (1929a) - Il Tacchino. Bassa Corte, 125-128.
- 84) Savorelli G. (1929b) - Il pollo Leghorn. Bassa Corte, 43-46.
- 85) Squadroni G. (1932) - La gallina Padovana. Rivista di Avicoltura, 7, 12-16.
- 86) Taibel A. (1926) - Le migliori razze di Galline. Editore Agrario, Piacenza.
- 87) Taibel A. (1949) - Una nuova razza di faraone apparsa per mutazione. Torino.
- 88) Taibel A. (1930) - Sulla ricostituzione della razza Valdarno. Rivista di Avicoltura.
- 89) Toschi A. (1971) - Allevamento dell'oca. Edagricole, Bologna.
- 90) Trevisani G. (1907/1912/1919/1929/1936) - Pollicoltura. Hoepli Edizioni, Milano.
- 91) Vecchi A. (1929) - Elementi scientifici di Avicoltura. Cappelli Editore, Bologna.
- 92) Vecchi A. (1944) - Avicoltura. Cappelli Editore, Bologna.
- 93) Voiteillier C. (1915) - Aviculture. J. B. Bailliere et fils, Paris.
- 94) Zanoni G. (1950) - L'allevamento degli Animali da cortile. Soc. Tip. Modenese, Modena.
- 95) Zanoni G. (1981) - Anatrocoltura. Edagricole, Bologna.

## IL SELENIO NELL'ALIMENTAZIONE DELLE ANATRE DA CARNE <sup>1</sup>

Bonomi A., Bonomi B.M., Quarantelli A.<sup>2</sup>

### *Introduzione*

Le ricerche, di cui al titolo, si inseriscono nel quadro di un vasto piano di lavoro programmato e in corso di svolgimento presso il nostro Dipartimento con la finalità di approfondire le conoscenze in tema di nutrizione oligominerale degli animali in produzione zootecnica.

Circa il ruolo che il selenio è in grado di svolgere nei processi biologici una documentazione abbastanza aggiornata è presente in numerose monografie e in vari trattati (1÷23), ai quali si rimanda.

In questa sede sarà sufficiente menzionare che la funzione esercitata dal selenio nell'ambito della fisiologia animale avviene a livello cellulare attraverso la glutatione perossidasi (GSH-PX) con un meccanismo di protezione delle membrane dai perossidi in senso antiossidante, più precisamente trasformando i perossidi nei meno dannosi alcoli corrispondenti (- ROH) e l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in H<sub>2</sub>O per mezzo del glutatione donatore di idrogeno.

Altre funzioni metaboliche attribuibili al selenio sono l'intervento nella biosintesi delle prostaglandine (24), nella coagulazione del sangue (25), nel metabolismo dell'eme (26) e dei carboidrati (27). Di più: l'oligoelemento interverrebbe in processi infiammatori dei tessuti, stimolando la formazione di anticorpi (13) mentre la sua carenza si rifletterebbe negativamente sull'attività fagocitaria dei polimorfonucleati (28). Si ipotizza l'esistenza di una correlazione fra quest'ultimo fenomeno e la ritenzione della placenta nella specie bovina (29).

Per quanto attiene il fabbisogno in selenio degli animali di interesse zootecnico la letteratura consultata non è e non può essere esauriente; infatti sussistono non poche incertezze sia sulla quantità di selenio necessaria per evitare turbe carenziali sia sulla quantità "ottimale", capace cioè di assicurare il perfetto stato di salute e di produttività.

---

<sup>1</sup> Ricerche effettuate con il contributo finanziario del M.U.R.S.T. (quota 60%).

Indirizzo per corrispondenza: Prof. Alberto Bonomi – Coordinatore della Sezione di Scienza degli Alimenti e della Nutrizione – Via del Taglio, 8 – 43100 Parma – tel 0521-902620 – Fax 0521-902622; e-mail: bonomi @unipr.it

<sup>2</sup> Dipartimento di Produzioni Animali, Biotecnologie Veterinarie, Qualità e Sicurezza degli Alimenti- Sezione di Scienza degli Alimenti e della Nutrizione- Facoltà di Medicina Veterinaria - Università degli Studi di Parma

D'altra parte non si deve dimenticare che il fabbisogno di selenio è legato alla presenza nella razione di altri elementi minerali, quali, ad es., lo zinco, il rame, lo zolfo ed il ferro che possono condizionare, per quello che si sa, l'assorbimento dell'elemento in questione; inoltre, lo stesso fabbisogno è influenzato dai rapporti che vincolano il selenio, in maniera peraltro ancora in gran parte oscura, ad ormoni e biocatalizzatori organici ed inorganici e dalle circostanze di ordine fisiologico, in cui si trova l'animale, sulle quali agisce, con intensità non sempre ponderabile e misurabile, l'ambiente.

In via orientativa si è convenuto di esigere che la razione debba contenere l'elemento in ragione di 100 p.p.b. sulla sostanza secca (30÷33).

La carenza di selenio si manifesta con sindromi che interessano apparati e organi diversi in rapporto alla specie, all'età ed al sesso.

Nei bovini e nei ruminanti in genere il quadro fenomenico di tali sindromi è essenzialmente rappresentato dalla mioglobinuria (34÷39), da forme di mioglobinuria paralitica (40, 41), da scarsa resistenza nei confronti delle malattie infettive (42), da ritenzione placentare (43, 44) e da ipo e infertilità (45÷52).

Nei suini la carenza di selenio influenza negativamente la velocità di crescita, l'utilizzazione dell'alimento, il contenuto di selenio nel sangue, nel fegato e nei muscoli bene spesso sulla base di una sintomatologia caratterizzata da spasmi muscolari, convulsioni ed irregolare svolgimento delle grandi funzioni organiche (53÷55).

Impiegando il selenito di sodio (titolo in Se 46%) abbiamo già condotto una serie di sperimentazioni, che sono andate ad interessare le bovine da latte (56), i vitelli in fase di svezzamento (57), le manzette e le manze (58), i vitelli da macello a carne bianca (59), i vitelloni (60), le scrofe (61), i suini in fase di svezzamento (62) e i suini all'ingrasso (63).

Le nostre ricerche hanno permesso di accertare che l'integrazione delle razioni con selenio è capace di influenzare positivamente l'estrinsecazione delle attitudini produttive degli animali.

Nel piano generale di ricerca, programmato presso il nostro Dipartimento, oltre le suddette sperimentazioni, è stato previsto lo studio del problema relativo all'integrazione con selenio delle razioni per le piccole specie, nei confronti delle quali le notizie riportate in letteratura sono piuttosto scarse.

Sperimentando sul tacchino da carne (64), sulle galline produttrici di uova da consumo (65), sui broilers (66) e sulle faraone da carne (67) ci è stato possibile accertare che il selenio, previsto nei mangimi alle dosi di 200 e di 300 p.p.b., è capace di influenzare positivamente l'efficienza produttiva degli animali.

Sulla base dei favorevoli risultati ottenuti abbiamo creduto opportuno ampliare il campo di indagine sperimentando sulle anatre da carne.

Scopo delle nostre ricerche è stato quello di osservare:

a) - se l'integrazione delle razioni con selenio fosse in grado di favorire una migliore estrinsecazione delle attitudini produttive degli animali;

b) - se la risposta dei soggetti alle razioni sperimentali, valutabile attraverso l'accrescimento ponderale, l'utilizzazione dell'alimento, lo stato di salute e le caratteristiche quanti qualitative della carne, potesse essere condizionata dal dosaggio dell'oligoelemento, così da consentire l'acquisizione di elementi utili alla definizione del fabbisogno.

## Materiali e metodi

La prova è stata condotta su 1200 anatroccoli di razza Muschiata di un giorno di età, tutti maschi e distinti in quattro gruppi di 300 soggetti cadauno, contrassegnati con i numeri dall'1 al 4.

L'allevamento, praticato in parchetto in condizioni di ambiente uniformi per i quattro gruppi, ha avuto la durata di 60 giorni.

I soggetti del gruppo 1, considerato di "controllo", sono stati alimentati, durante il primo periodo (dal 1° al 30° giorno), ed il secondo (dal 31° al 60° giorno) con due mangimi composti integrati, la cui composizione è riportata nella tab. 1.

Tabella 1 - Formulazione dei mangimi composti integrati.

Periodi		1°	2°
Farina di mais	Kg	50.00	60.00
Farina di orzo	"	5.00	5.00
Farina di soia (estr. 50% prot.)	"	16.00	13.00
Farina di girasole (estr. 45% prot.)	"	5.00	5.00
Farina di pesce	"	4.00	2.00
Farina di medica dis.	"	3.00	2.00
Cruschello di frumento	"	5.00	3.00
Lievito di birra	"	1.00	1.00
Glutine di mais giallo	"	2.00	2.00
Melasso di canna	"	2.00	2.00
Pannello di germe di mais	"	4.00	2.00
Carbonato di calcio	"	1.00	1.00
Fosfato bicalcico	"	1.00	1.00
Cloruro di sodio	"	0.50	0.50
Complesso vit. e oligomin (1)	"	0.50	0.50

(1) - Composizione del complesso vitaminico e oligominerale (per 1 kg): Vit. A: U.I. 3.000.000; Vit. D3: U.I. 800.000; Vit. E: mg 8.000; Vit. K: mg 1.600; Vit. B1: mg 600; Vit. B2: mg 1.400; Vit. B6: mg 1.400; Vit. B12: mg 6; Vit. PP: mg 10.000; Vit. H: mg 20; Vit. C: mg 20.000; Ac. pantotenico: mg 2.400; Ac. folico: mg 200; Colina cloruro: mg 120.000; DL-metionina: mg 40.000; Co: mg 40; Fe: mg 18.000; Cu: mg 1.200; Zn: mg 10.000; Mn: mg 18.000; I: mg 200; BHT: mg 3.000; supporto vegetale q.b. a g 1.000.

Per l'alimentazione dei gruppi 2, 3 e 4, considerati "di esperimento", si è fatto ricorso agli stessi mangimi integrati però con selenio nelle rispettive dosi di 100, di 200 e di 300 p.p.b.

E' stato utilizzato selenio sotto forma di selenito di sodio (Se 46%).

Nella tab. 2 sono compendiate i risultati dell'analisi chimica effettuata sui mangi-

Tabella 2 - Analisi chimica dei mangimi composti integrati.

Periodi		1°	2°
Acqua	%	12.30	12.10
Ceneri gregge	“	4.00	3.80
Proteina greggia	“	22.00	19.50
Sostanze grasse gregge	“	3.30	3.50
Cellulosa greggia	“	3.60	3.20
Estrattivi inazotati	“	54.80	57.90
Selenio	mg/Kg	0.07	0.06

mi di 1° e di 2° periodo. La determinazione del contenuto in principi immediati è stata condotta secondo la tecnica consigliata dalla C.V.A. dell’A.S.P.A. (68) mentre per il tenore in selenio è stata adottata la metodica proposta da Tam e Lacroix (69) da noi leggermente modificata per renderla più rapida e semplice nell’esecuzione pratica (70). Nel corso ed al termine della prova istituita sono stati effettuati i seguenti rilievi:

- a) - il controllo giornaliero dello stato di salute degli animali;
- b) - la verifica dell’incremento ponderale individuale e del consumo di alimenti;
- c) - la determinazione di alcuni parametri ematici.

Sui campioni di sangue, prelevati da 10 soggetti scelti nell’ambito di ciascun gruppo, sono stati determinati i contenuti di proteine totali, di albumina, di globuline, di glucosio, di fosfatasi alcalina, di bilirubina totale, di colesterolo totale, di col. HDL, di col. LDL, di trigliceridi, di lipidi totali e di lipoproteine  $\alpha$  e  $\beta$ , di fosfolipidi, di NEFA, con kit della Boehringer Italia;

- d) - l’indagine sul contenuto in grasso delle feci.

Contemporaneamente ai prelievi di sangue, di cui al punto c) sono state raccolte le feci per la determinazione del grasso totale, dei grassi neutri, dei saponi e degli acidi grassi, adottando la metodica di Van de Kramer e coll., descritta da Varley (71);

- e) - il controllo della resa di macellazione e la valutazione delle carcasse alla spolpatura;

- f) - l’analisi chimico-bromatologica della carne secondo la metodica A.O.A.C. (72);

- g) - la determinazione della digeribilità pepsinica “in vitro” della carne, secondo la ben nota tecnica di Sjollema - Wedemeyer;

- h) - la valutazione della tenerezza della carne, secondo il procedimento proposto da Schömborg e Lochmann, elaborato da Krüger (73) e basato sull’impiego della tripsina, adottando gli accorgimenti resi noti da uno di noi in altra memoria (74), alla quale si rimanda;

- i) - la valutazione del colore della cute. Le percentuali medie di riflessione a diverse lunghezze d’onda sono state determinate per via spettrofotometrica con apparecchio Unigalvo.

I dati ottenuti a seguito delle indagini effettuate sono stati sottoposti ad analisi della varianza secondo il metodo dei minimi quadrati, adottando il seguente modello:

$$Y_{ij} = \mu + a_{ij} + e_{ij}$$

dove

$Y_{ij}$  = singola osservazione;

$\mu$  = media generale;

$a_{ij}$  = effetto della dose ( $i = 1, \dots, 4$ );

$e_{ij}$  = effetto casuale residuo.

### *Risultati e discussione*

#### A) – Lo stato di salute.

L'integrazione con selenio delle razioni per le anatre in ragione di 100, di 200 e di 300 p.p.b. non ha costituito fonte di variazione per lo stato di salute dei soggetti. Parimenti ai controlli gli animali trattati hanno mostrato un sensorio vigile e sono stati caratterizzati da un regolare svolgimento delle grandi funzioni organiche. In considerazione di ciò il tasso di mortalità è risultato decisamente basso, avendo fatto registrare valori oscillanti attorno al 3%.

#### B) – L'incremento ponderale ed il consumo di alimenti.

I soggetti sono stati pesati individualmente al 30° e al 60° giorno di età.

Nella tab. 3 (v. anche grafico 1) sono raccolti i risultati ottenuti a seguito dell'elaborazione matematico-statistica condotta sui dati primitivi mentre nella tab. 4 figurano i valori medi relativi agli incrementi ponderali giornalieri.

Dall'esame delle tabelle si evince che:

1) – al 30° giorno di età il selenio alle dosi di 200 p.p.b. (gruppo 3) e di 300 p.p.b. di mangime (gruppo 4) ha influenzato positivamente l'accrescimento ponderale delle anatre in virtù di differenze significative ( $P < 0,05$ ), nei confronti dei controlli (gruppo 1), pari, rispettivamente, al 8,00% e al 10,00%. La differenza fra il gruppo 3 e il gruppo 4 non ha trovato conferma ( $P > 0,05$ ). Non significativa ( $P > 0,05$ ) la differenza fra i controlli e i soggetti che hanno assunto mangime, in cui ha trovato posto il selenio alla dose di 100 p.p.b. (gruppo 2);

2) - al 60° giorno di età, cioè al termine della prova, il selenio, contenuto nel mangime alle dosi di 200 p.p.b. (gruppo 3) e di 300 p.p.b. (gruppo 4) si è rivelato più efficace, rispetto al periodo precedente, nel potenziare la velocità di crescita, massime in corrispondenza del dosaggio più elevato.

Le differenze fra i soggetti trattati e i controlli (gruppo 1) sono risultate significative ( $P < 0,05$ ) e pari, nell'ordine, al 9,50% e al 15,00%. Pure significativa ( $P < 0,05$ ) la differenza fra il gruppo 3 e il gruppo 4. Non ha raggiunto la significatività statistica ( $P > 0,05$ ) la differenza fra i controlli e i soggetti alimentati con mangime contenente il selenio alla dose di 100 p.p.b. (gruppo 2).

Nella tab. 5 (v. anche grafico 2) sono riportati gli indici di conversione dell'alimento, in base ai quali è possibile affermare che le anatre trattate con selenio alle dosi

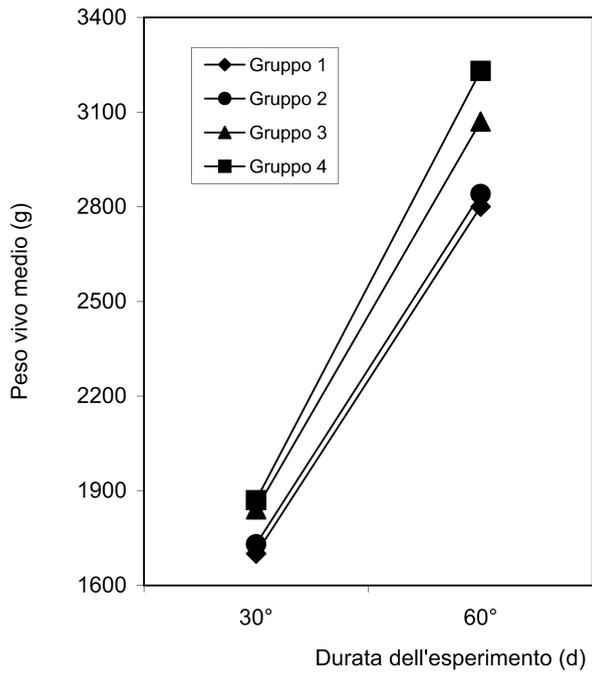


Grafico n. 1 - Accrescimento ponderale

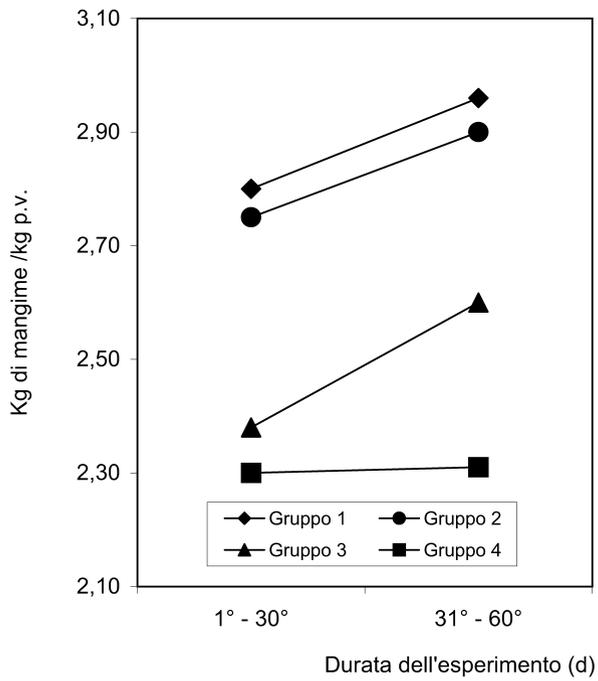


Grafico n. 2 - Indice di conversione

Tabella 3 - Accrescimento ponderale (valori medi  $\pm$  D.S.).

Gruppi		1	2	3	4
Soggetti	n.	300	300	300	300
Durata della prova	d	60	60	60	60
Pesi medi al 30° d	g	1.700,50a $\pm$ 70,11	1.730,15a $\pm$ 64,26	1.840,62b $\pm$ 68,30	1.870,10b $\pm$ 71,11
Pesi medi al 60° d	g	2.800,26a $\pm$ 86,20	2.840,16a $\pm$ 90,10	3.070,24b $\pm$ 85,40	3.230,81c $\pm$ 92,66

- a, b, c diversi per  $P < 0,05$ .

141

Tabella 4 - Incrementi ponderali giornalieri (valori medi  $\pm$  D.S.).

Gruppi		1	2	3	4
dal 1° al 30° d	g	55.00a $\pm$ 3.10	56.30a $\pm$ 3.00	60.00b $\pm$ 3.21	61.50b $\pm$ 3.15
dal 31° al 60° d	g	37.00a $\pm$ 3.22	37.50a $\pm$ 3.20	41.00b $\pm$ 3.18	46.00c $\pm$ 3.16
dal 1° al 60° d	g	46.00a $\pm$ 3.11	47.00a $\pm$ 3.13	50.50b $\pm$ 3.00	54.00c $\pm$ 3.11

- a, b, c diversi per  $P < 0,05$ .

Tabella 5 - Indice di conversione - Kg di mangime/Kg p.v. - valori medi  $\pm$  D.S.

Gruppi		1	2	3	4
dal 1° al 30° d	Kg	2.80b $\pm$ 0.17	2.75b $\pm$ 0.15	2.38a $\pm$ 0.19	2.30a $\pm$ 0.20
dal 31° al 60° d	Kg	2.96c $\pm$ 0.23	2.90c $\pm$ 0.25	2.60b $\pm$ 0.21	2.31a $\pm$ 0.22
dal 1° al 60° d	Kg	2.90c $\pm$ 0.14	2.83c $\pm$ 0.16	2.50b $\pm$ 0.13	2.30a $\pm$ 0.13

- a, b, c diversi per P<0,05.

Tabella 6 - Parametri ematici (valori medi  $\pm$  D.S.).

Gruppi		1	2	3	4
Proteine totali	g/100 ml	6.20 $\pm$ 0.61	6.35 $\pm$ 0.58	6.50 $\pm$ 0.63	6.71 $\pm$ 0.59
Albumina	g/100 ml	2.30 $\pm$ 0.28	2.35 $\pm$ 0.24	2.42 $\pm$ 0.21	2.46 $\pm$ 0.22
Globuline	g/100 ml	3.90 $\pm$ 0.37	4.00 $\pm$ 0.41	4.08 $\pm$ 0.40	4.25 $\pm$ 0.43
Glucosio	mg/100 ml	90.15a $\pm$ 6.80	92.30a $\pm$ 6.72	107.15b $\pm$ 7.00	118.36c $\pm$ 6.90
Bilirubina tot.	mg/100 ml	1.86b $\pm$ 0.16	1.81b $\pm$ 0.18	1.45a $\pm$ 0.21	1.38a $\pm$ 0.23
Colesterolo tot.	mg/100 ml	140.00b $\pm$ 7.34	136.32b $\pm$ 6.92	110.15a $\pm$ 6.85	107.11a $\pm$ 7.00
Colesterolo HDL	mg/100 ml	60.00b $\pm$ 6.51	57.00b $\pm$ 6.63	42.10a $\pm$ 6.72	38.60a $\pm$ 6.81
Colesterolo LDL	mg/100 ml	70.22b $\pm$ 7.11	67.50b $\pm$ 7.00	56.39a $\pm$ 6.89	53.34a $\pm$ 7.13
Trigliceridi	mg/100 ml	136.38b $\pm$ 10.13	131.40b $\pm$ 9.80	116.20a $\pm$ 9.72	10.63a $\pm$ 9.85
Fosfolipidi	mg/100 ml	52.70b $\pm$ 6.84	50.34b $\pm$ 6.70	31.34a $\pm$ 7.10	28.66a $\pm$ 7.00

- a, b, c diversi per P<0,05.

di 200 p.p.b. (gruppo 3) e di 300 p.p.b. di mangime (gruppo 4) hanno richiesto una quantità di alimento, per la produzione di 1 Kg di peso vivo, inferiore nei confronti dei controlli (gruppo 1) in virtù di differenze significative ( $P < 0,05$ ), calcolate per l'intero ciclo produttivo, pari, rispettivamente, al 14,00% e al 21,00%. Significativa ( $P < 0,05$ ) anche la differenza fra il gruppo 3 e il gruppo 4. Risultanze non diverse da quelle dei controlli ( $P > 0,05$ ) sono state registrate per i soggetti trattati con selenio alla dose di 100 p.p.b. di mangime (gruppo 2).

### C) - I parametri ematici.

I risultati forniti dalle indagini condotte sui campioni di sangue prelevati con una periodicità di 15 giorni, sono sintetizzati nelle tabb. 6 e 7. Dall'esame delle tabelle torna agevole constatare che:

- i contenuti di proteine totali, di albumina, di globuline sono entro i limiti della normalità senza il riscontro di variazioni comunque riferibili ai particolari regimi alimentari adottati ( $P > 0,05$ );

- il tenore di glucosio è rappresentato da valori più elevati nelle anatre che hanno ricevuto mangimi contenenti selenio in ragione di 200 p.p.b. (gruppo 3) e di 300 p.p.b. (gruppo 4) sulla base di differenze, nei confronti dei controlli (gruppo 1), significative ( $P < 0,05$ ) e pari, nell'ordine, al 20,00% e al 31,00%.

Pure significativa ( $P < 0,05$ ) la differenza fra il gruppo 3 e il gruppo 4. Non è risultata significativa ( $P > 0,05$ ) la differenza fra i controlli e i soggetti trattati con selenio alla dose di 100 p.p.b. di mangime (gruppo 2);

- il selenio, contenuto nei mangimi alle dosi di 200 p.p.b. (gruppo 3) e di 300 p.p.b. (gruppo 4), ha determinato, rispetto ai controlli (gruppo 1), variazioni in meno ( $P < 0,05$ ) nei tenori di bilirubina totale (risp. 22,00% e 26,00%), di colesterolo totale (risp. 21,00% e 24,00%), di col. HDL (risp. 30,00% e 35,50%), di col. LDL (risp. 20,00% e 24,00%), di trigliceridi (risp. 15,00% e 19,00%), di fosfolipidi (risp. 40,00% e 46,00%), di fosfatasi alcalina (risp. 22,00% e 26,50%), di NEFA (risp. 20,00% e 24,00%) e di lipidi totali (risp. 8,00% e 8,30%). Per tutti i parametri la differenza fra il gruppo 3 e il gruppo 4 non è risultata significativa ( $P > 0,05$ ). Non significativa

Tabella 7 - Parametri ematici (valori medi  $\pm$  D.S.).

Gruppi		1	2	3	4
Fosfatasi alcalina	mU/ml	90.34b $\pm$ 8.62	86.61b $\pm$ 8.46	70.35a $\pm$ 8.91	66.42a $\pm$ 9.00
NEFA	mg/l	73.10b $\pm$ 7.26	70.24b $\pm$ 7.35	58.20a $\pm$ 7.00	55.39a $\pm$ 6.93
Lipidi totali	mg/100 ml	421.62b $\pm$ 10.64	417.15b $\pm$ 10.30	391.27a $\pm$ 10.81	386.63a $\pm$ 10.58
Lipoproteine $\alpha$	%	30.12a $\pm$ 8.45	35.61a $\pm$ 8.20	48.39b $\pm$ 8.33	62.33c $\pm$ 8.21
Lipoproteine $\beta$	%	69.88c $\pm$ 8.45	64.39c $\pm$ 8.20	51.61b $\pm$ 8.33	37.67a $\pm$ 8.21
Rapporto $\beta/\alpha$		2.32c $\pm$ 0.58	1.90c $\pm$ 0.67	1.10b $\pm$ 0.70	0.60a $\pm$ 0.64

- a, b, c diversi per  $P < 0,05$ .

anche la differenza fra i controlli e i soggetti razionati con mangimi integrati con selenio alla dose di 100 p.p.b. (gruppo 2);

- le lipoproteine  $\alpha$  e  $\beta$ , determinate nelle anatre che hanno assunto mangimi, in cui ha trovato posto il selenio alle dosi di 200 p.p.b. (gruppo 3) e di 300 p.p.b. (gruppo 4), sono state interessate, rispettivamente, da variazioni in più ed in meno nei confronti del lipidogramma dei controlli (gruppo 1), in virtù di differenze significative ( $P < 0,05$ ) pari, nell'ordine, al 61,00% e al 107,00% per le  $\alpha$ , al 26,00% e al 46,00% per le  $\beta$ . Significative ( $P < 0,05$ ) anche le differenze fra il gruppo 3 e il gruppo 4. Per entrambi i parametri non hanno trovato conferma ( $P > 0,05$ ) le differenze fra i controlli e i soggetti trattati con selenio alla dose di 100 p.p.b. di mangime (gruppo 2).

#### D)- Il contenuto in grasso delle feci.

Le risultanze, alle quali si è pervenuti a seguito delle determinazioni effettuate, raccolte nella tab. 8, permettono di osservare che le feci delle anatre razionate con mangimi contenenti selenio alle dosi di 200 p.p.b. (gruppo 3) e di 300 p.p.b. (gruppo 4) sono caratterizzate da valori più bassi di grasso totale e di grassi neutri e più elevati di saponi e di acidi grassi a paragone con quelle dei controlli (gruppo 1) sulla base di differenze significative ( $P < 0,05$ ) pari, rispettivamente, al 8,50% e al 16,50% per il grasso totale, al 40,00% e al 76,00% per i grassi neutri, al 14,00% e al 30,00% per i saponi, al 16,00% e al 27,00% per gli acidi grassi. Per tutti i parametri significative ( $P < 0,05$ ) anche le differenze fra il gruppo 3 e il gruppo 4.

Risultanze non diverse ( $P > 0,05$ ) da quelle dei controlli sono state registrate per le anatre trattate con selenio alla dose di 100 p.p.b. (gruppo 2).

#### E) – Le rese di macellazione.

Su 50 anatre scelte nell'ambito di ciascun gruppo e sacrificate dopo un periodo di digiuno di 12 ore, sono state controllate le rese in: carcassa, carne, grasso di deposito, ossa, cute e tessuto sottocutaneo, testa e collo, zampe, ventriglio, complesso "fegato, milza, cuore, polmoni, reni e testicoli", penne, intestino e pancreas, sangue.

I risultati ottenuti, compendati nella tab. 9, pongono in evidenza che:

- la resa in carcassa a caldo, nelle anatre dei quattro gruppi, ha oscillato, fra il 62,00% e il 67,00%.

Tabella 8 – Contenuto in grasso delle feci (valori medi  $\pm$  D.S. ).

Gruppi		1	2	3	4
Grasso totale	%	3.71c $\pm$ 0.16	3.64c $\pm$ 0.15	3.40b $\pm$ 0.12	3.10a $\pm$ 0.17
Grassi neutri	%	2.10c $\pm$ 0.19	1.96c $\pm$ 0.20	1.25b $\pm$ 0.21	0.50a $\pm$ 0.18
Saponi	%	1.40a $\pm$ 0.12	1.45a $\pm$ 0.13	1.60b $\pm$ 0.11	1.82c $\pm$ 0.10
Acidi grassi	%	0.21a $\pm$ 0.09	0.23a $\pm$ 0.08	0.55b $\pm$ 0.08	0.78c $\pm$ 0.07

- a, b, c diversi per  $P < 0,05$ .

Tabella 9 – Rilievi di macellazione a caldo (% p.v. - valori medi  $\pm$  D.S.).

Gruppi	1	2	3	4
Carcassa	62.10a $\pm$ 1.63	62.50a $\pm$ 1.58	65.31b $\pm$ 1.61	67.40c $\pm$ 1.66
Carne	30.11a $\pm$ 1.00	30.25a $\pm$ 1.11	34.86b $\pm$ 0.98	37.25c $\pm$ 1.10
Grasso	3.10c $\pm$ 0.23	3.00c $\pm$ 0.21	2.40b $\pm$ 0.25	2.11a $\pm$ 0.20
Ossa	16.15 $\pm$ 1.00	16.00 $\pm$ 0.94	15.50 $\pm$ 0.98	15.80 $\pm$ 1.05
Cute e tessuto sottocutaneo	12.60 $\pm$ 0.96	13.00 $\pm$ 0.98	12.55 $\pm$ 1.11	12.24 $\pm$ 1.12
Testa e collo	10.00 $\pm$ 1.40	9.60 $\pm$ 1.28	9.30 $\pm$ 1.31	9.00 $\pm$ 1.26
Zampe	3.00 $\pm$ 0.75	2.83 $\pm$ 0.80	2.70 $\pm$ 0.66	2.40 $\pm$ 0.82
Ventriglio	2.50 $\pm$ 0.68	2.40 $\pm$ 0.71	2.35 $\pm$ 0.65	2.00 $\pm$ 0.70
Fegato, milza, cuore, polmoni, reni e testicoli	4.00 $\pm$ 0.71	4.30 $\pm$ 0.68	4.50 $\pm$ 0.64	4.00 $\pm$ 0.66
Penne	5.50 $\pm$ 0.82	5.40 $\pm$ 0.86	5.20 $\pm$ 0.91	5.00 $\pm$ 0.90
Intestino e pancreas	6.00 $\pm$ 1.20	5.50 $\pm$ 1.10	5.38 $\pm$ 1.18	5.00 $\pm$ 1.15
Sangue	5.10 $\pm$ 0.92	4.90 $\pm$ 1.00	4.50 $\pm$ 0.90	4.30 $\pm$ 0.95

- a, b, c diversi per  $P < 0,05$ .

Le rese più elevate sono state denunciate dai soggetti razionati con mangimi caratterizzati da quote di selenio pari a 200 p.p.b. (gruppo 3) e a 300 p.p.b. (gruppo 4), in virtù di differenze, nei confronti dei controlli (gruppo 1) significative ( $P < 0,05$ ) e pari, rispettivamente, al 5,00% e al 8,50%. Pure significativa ( $P < 0,05$ ) la differenza fra il gruppo 3 e il gruppo 4. Per un suo impiego alla dose di 100 p.p.b. (gruppo 2) il selenio non ha costituito fonte di variazione ( $P > 0,05$ ) per la resa in carcassa;

- la resa in carne ha fatto registrare valori più elevati nelle anatre trattate con selenio alle dosi di 200 p.p.b. (gruppo 3) e di 300 p.p.b. di mangime (gruppo 4) sulla base di differenze, a paragone con i controlli (gruppo 1), significative ( $P < 0,05$ ) e pari, nell'ordine, al 16,00% e al 24,00%. Ha trovato conferma ( $P < 0,05$ ) anche la differenza fra il gruppo 3 e il gruppo 4.

Non significativa ( $P > 0,05$ ) la differenza fra i controlli e i soggetti alimentati con mangimi contenenti selenio alla dose di 100 p.p.b. (gruppo 2);

- la resa in grasso di deposito è risultata più bassa nelle anatre trattate con selenio alle dosi di 200 p.p.b. (gruppo 3) e di 300 p.p.b. di mangime (gruppo 4) sulla base di differenze, nei confronti dei controlli (gruppo 1), significative ( $P < 0,05$ ) e pari, rispettivamente, al 22,00% e al 32,00%. Significativa ( $P < 0,05$ ) anche la differenza fra il gruppo 3 e il gruppo 4.

Risultanze pressoché analoghe a quelle dei controlli ( $P > 0,05$ ) sono state fornite dal selenio alla dose di 100 p.p.b. di mangime (gruppo 2);

- le rese in ossa, cute e tessuto sottocutaneo, testa e collo, zampe, ventriglio, complesso "fegato, milza, cuore, polmoni, reni e testicoli", penne, intestino e pancreas,

sangue non hanno subito modificazioni ( $P>0,05$ ), a seguito dell'integrazione delle razioni con selenio ai vari dosaggi considerati.

#### F) - La composizione chimico-bromatologica della carne.

I campioni di carne di “petto” sono stati sottoposti, previa omogeneizzazione, a disidratazione e successivamente ridotti in polvere prima di procedere alle varie indagini di ordine chimico. E' stata effettuata la determinazione del contenuto in acqua, in ceneri gregge, in proteina greggia e in grasso greggio. I risultati ottenuti, riportati nella tab. 10, permettono di rilevare che la carne delle anatre trattate con selenio alle dosi di 200 p.p.b. (gruppo 3) e di 300 p.p.b. di mangime (gruppo 4) ha all'attivo un tenore di grasso inferiore a paragone con quello rilevato nella carne dei controlli (gruppo 1) in virtù di differenze significative ( $P<0,05$ ) pari, rispettivamente, al 14,00% e al 26,00%.

Ha trovato conferma ( $P<0,05$ ) anche la differenza fra il gruppo 3 e il gruppo 4.

La mazzatura della carne non è stata influenzata ( $P>0,05$ ) dal selenio alla sua dose di impiego nel mangime di 100 p.p.b. (gruppo 2).

A prescindere dal dosaggio nessuna variazione ( $P>0,05$ ) è andata ad interessare i contenuti di acqua, di ceneri e di proteina, i cui valori hanno oscillato entro i limiti della normalità.

#### G) - La digeribilità pepsinica “in vitro” della carne.

Sulla carne di “petto”, essiccata e sgrassata, è stata determinata la digeribilità, impiegando il metodo proposto da Sjollema-Wedemeyer.

I valori medi relativi alla proteina totale, indigerita, digeribile, nonché al coefficiente di digeribilità figurano nella tab. 11, l'esame della quale permette di rilevare che la carne delle anatre razionate con mangimi contenenti selenio alle dosi di 200 p.p.b. (gruppo 3) e di 300 p.p.b. (gruppo 4) è più digeribile rispetto a quella dei controlli (gruppo 1). Il coefficiente di digeribilità delle proteine mostra infatti differenze significative ( $P<0,05$ ) pari, nell'ordine, al 4,00% e al 7,00%. Pure significativa ( $P<0,05$ ) la differenza fra il gruppo 3 e il gruppo 4. Non ha raggiunto la significatività statistica ( $P>0,05$ ) la differenza fra i controlli e i soggetti alimentati con mangimi integrati con selenio alla dose di 100 p.p.b. (gruppo 2).

#### H) - La tenerezza della carne.

Per la valutazione della tenerezza della carne di “petto” si è fatto ricorso al procedimento proposto da Schönberg e Lochmann, elaborato da Krüger, basato sull'impiego della tripsina. Con il medesimo procedimento si opera su carne essiccata e sgrassata che viene sottoposta a digestione enzimatica per 96 ore. Al termine di tale periodo la sostanza indigerita è rappresentata quasi totalmente dal tessuto connettivo.

Le risultanze ottenute, riepilogate nella tab. 12, mettono in luce che la carne delle anatre trattate con selenio alle dosi di 200 p.p.b. (gruppo 3) e di 300 p.p.b. di mangime (gruppo 4) è più tenera nei confronti di quella dei controlli (gruppo 1). Le

Tabella 10 - Composizione chimico-bromatologica della carne di "petto" (% - valori medi  $\pm$  D.S.).

Gruppi	1	2	3	4
Acqua	73.50 $\pm$ 0.15	73.42 $\pm$ 0.17	73.38 $\pm$ 0.19	73.46 $\pm$ 0.16
Ceneri gregge	1.20 $\pm$ 0.09	1.17 $\pm$ 0.11	1.22 $\pm$ 0.10	1.24 $\pm$ 0.11
Proteina greggia	22.35 $\pm$ 0.70	22.50 $\pm$ 0.68	22.70 $\pm$ 0.65	22.80 $\pm$ 0.60
Sostanze grasse gregge	2.45c $\pm$ 0.23	2.40c $\pm$ 0.21	2.10b $\pm$ 0.18	1.81a $\pm$ 0.20

- a, b, c diversi per  $P < 0,05$ .

Tabella 11 – Digeribilità pepsinica "in vitro" della carne di "petto" (% - valori medi  $\pm$  D.S.).

Gruppi	1	2	3	4
Proteine totali	22.35 $\pm$ 0.70	22.50 $\pm$ 0.68	22.70 $\pm$ 0.65	22.80 $\pm$ 0.60
Proteine indigerite	2.70c $\pm$ 0.31	2.55c $\pm$ 0.30	2.00b $\pm$ 0.38	1.40a $\pm$ 0.36
Proteine digeribili	19.65a $\pm$ 0.42	19.95a $\pm$ 0.50	20.70b $\pm$ 0.47	21.40c $\pm$ 0.43
Coefficiente di digeribilità	88.00a $\pm$ 1.20	88.60a $\pm$ 1.32	91.50b $\pm$ 1.40	94.00c $\pm$ 1.28

- a, b, c diversi per  $P < 0,05$ .

Tabella 12 – Digestione tripsinica “in vitro” della carne di “petto”. Sostanza indigerita espressa in % sulla carne essiccata e sgrassata (valori medi  $\pm$ D.S.).

Gruppi	Sostanza indigerita
1	2.85c $\pm$ 0.29
2	2.70c $\pm$ 0.31
3	2.10b $\pm$ 0.35
4	1.66a $\pm$ 0.30

- a, b, c diversi per  $P < 0,05$ .

differenze fra i contenuti di sostanza indigerita sono significative ( $P < 0,05$ ) e pari, rispettivamente, al 26,50% e al 42,00%. Ha trovato conferma ( $P < 0,05$ ) anche la differenza fra il gruppo 3 e il gruppo 4.

Non significativa ( $P > 0,05$ ) la differenza fra i controlli e i soggetti che hanno assunto mangimi contenenti selenio alla dose di 100 p.p.b. (gruppo 2).

#### I) – La pigmentazione della cute.

La determinazione del colore della cute è stata effettuata per via spettrofotometrica con apparecchio E.E.L. Unigalvo tipo 20. Esso consente nove letture della percentuale di riflessione, precisamente alle lunghezze d'onda, espresse in Å, di 4.260, 4.700, 4.900, 5.200, 5.500, 5.800, 6.000, 6.600 e 6.840. A tali lunghezze d'onda corrispondono i seguenti colori: il viola, il bleu, il bleu, il verde, il verde-giallo, il giallo, l'arancione, il rosso, il rosso.

Nella tab. 13 sono raccolti i risultati ottenuti a seguito delle misurazioni effettuate. L'esame degli stessi risultati mette in evidenza che la pigmentazione della cute delle anatre razionate con mangimi contenenti selenio alle dosi di 200 p.p.b. (gruppo 3) e di 300 p.p.b. di mangime (gruppo 4) è più intensa rispetto a quella dei controlli (gruppo 1). Alla lunghezza d'onda di 5.800 Å le differenze fra le percentuali di riflessione sono significative ( $P < 0,05$ ) e pari, nell'ordine, al 15,00% e al 22,00%.

Significativa ( $P < 0,05$ ) anche la differenza fra il gruppo 3 e il gruppo 4.

Il colore giallo della cute non ha subito modificazioni ( $P > 0,05$ ) a seguito del ricorso al selenio in ragione di 100 p.p.b. di mangime (gruppo 2).

#### *Conclusioni*

Le risultanze fornite dalle nostre indagini consentono la formulazione delle seguenti considerazioni e conclusioni:

1) – l'integrazione con selenio dei mangimi per le anatre da carne nella misura di

Tabella 13 – Colore della cute (percentuali di riflessione a diverse lunghezze d'onda espresse in Å - valori medi  $\pm$  D.S.).

Gruppi	Lunghezza d'onda								
	4.260	4.700	4.900	5.200	5.500	5.800	6.000	6.600	6.840
1	22,45	22,80	24,00	26,15	27,60	29,37a	30,11	32,38	33,76
	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$
	1,00	1,26	1,18	1,30	1,10	1,26	1,38	1,28	0,94
2	22,20	22,66	23,68	26,00	27,38	29,72a	30,20	32,60	33,60
	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$
	1,10	1,20	1,16	1,36	1,15	1,34	1,45	1,34	0,96
3	22,00	22,40	23,50	25,61	27,20	33,80b	30,64	32,85	33,44
	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$
	1,15	1,17	1,13	1,38	1,16	1,45	1,52	1,31	1,00
4	21,60	22,34	23,30	25,40	27,12	35,72c	30,80	32,90	33,10
	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$
	1,21	1,19	1,17	1,41	1,18	1,38	1,56	1,33	1,10

- a, b, c diversi per  $P < 0,05$ .

100, di 200 e di 300 p.p.b. non ha condizionato, positivamente o negativamente, lo stato di salute dei soggetti.

Nel corso dell'intero ciclo produttivo, fatta eccezione per qualche raro caso di broncopolmonite e di enterite, prontamente debellati con l'ausilio di interventi a base di antibiotici e sulfamidici, la vitalità di tutti i soggetti si è rivelata decisamente buona come del resto lo testimonia il basso tasso di mortalità (3%);

2) – impiegato nel mangime alle dosi di 200 e di 300 p.p.b. il selenio ha svolto un'azione positiva sull'accrescimento ponderale delle anatre massime in corrispondenza del dosaggio più elevato. A fine allevamento (60 giorni di età) le differenze, nella comparazione con i soggetti di controllo, hanno toccato quote pari, rispettivamente, al 9,50% e al 15,00%;

3) – accanto ad una migliore velocità di crescita vi è stato il riscontro di una più favorevole utilizzazione dell'alimento; il chilogrammo di peso vivo "ad anatra mercantile" è stato infatti prodotto dai soggetti trattati con un quantitativo di mangime inferiore, nell'ordine al 14,00% e al 21,00%. Anche con riferimento all'indice di conversione la migliore risposta è stata fornita dal selenio alla dose di 300 p.p.b. di mangime;

4) – sempre alle stesse dosi il selenio ha influenzato favorevolmente le rese in carcassa (risp. + 5,00% e + 8,50%), in carne (risp. + 16,00% e + 24,00%) e in grasso di deposito (risp. - 22,00% e - 32,00%), il contenuto in grasso della carne (risp. - 14,00% e - 26,00%) e alcune caratteristiche qualitative della carne, con riferimento al grado di digeribilità (risp. 4,00% e 7,00% per le prot. dig. dopo digestione pepsinica "in vitro") e al grado di tenerezza (risp. - 26,00% e - 42,00% per il tessuto connettivo dopo digestione tripsinica "in vitro") nonché la pigmentazione della cute (a seguito dell'indagine spettrofotometrica sono state registrate percentuali di riflessione, alla lunghezza d'onda del giallo, superiori, nell'ordine, del 15,00% e del 22,00% rispetto a quelle dei controlli);

5) – ad una dose più bassa di impiego (100 p.p.b. di mangime) il selenio non ha costituito fonte di variazione per l'efficienza produttiva delle anatre.

Le nostre ricerche hanno pertanto consentito di accertare che l'integrazione delle razioni per le anatre con selenio è capace di migliorare l'estrinsecazione delle attitudini produttive degli animali.

Circa il dosaggio del selenio sembra possibile ammettere che l'oligoelemento è particolarmente efficace quando trova utilizzazione nel mangime alla dose di 300 p.p.b.

Dal punto di vista biologico i risultati ottenuti crediamo possano trovare una plausibile interpretazione alla luce dei reperti sortiti dalle indagini condotte a livello ematico.

Il selenio impiegato nei mangimi alle dosi di 200 e di 300 p.p.b. ha favorito significativi aumenti del tasso di glucosio e riduzioni dei tenori di bilirubina totale, di colesterolo totale, HDL e LDL, di trigliceridi, di fosfolipidi, di fosfatasi alcalina, di NEFA, di lipidi totali, variazioni queste che testimoniano senza ombra di dubbio per l'importante ruolo che l'oligoelemento è capace di rivestire in seno ai metabolismi glucidico e lipidico.

A proposito di quest'ultimo deve ancora ricordarsi la possibilità del selenio di migliorare la digeribilità dei grassi come è stato documentato dall'aumento delle

lipoproteine  $\alpha$  nel sangue e dei tenori di saponi e di acidi grassi nelle feci.

Ulteriori indagini, già in corso di svolgimento, ci consentiranno di acquisire più ampie informazioni sul meccanismo d'azione e sulle funzioni metaboliche del selenio.

Nota – Il piano, l'esecuzione delle indagini e le conclusioni spettano in parti uguali agli Autori. (A. Bonomi).

**Parole chiave:** selenio, integrazione razione, anatre da carne.

**Key words:** selenium, ration integration, ducks.

**Mots-clefs:** sélénium, canards à viande, efficacité de production

**RIASSUNTO** - Gli Autori espongono i risultati ottenuti a seguito di un esperimento circa l'impiego del selenio nel ruolo di integratore, nell'alimentazione delle anatre da carne. Il selenio, alle dosi di 200 e di 300 p.p.b. di mangime, si è dimostrato capace di influenzare positivamente l'accrescimento ponderale (risp. 9,50% e 15,00%), l'utilizzazione dell'alimento (risp. 14,00% e 21,00%), le rese in carcassa (risp. + 5,00% e + 8,50%), in carne (risp. + 16,00% e + 24,00%) e in grasso di deposito (risp. - 22,00% e - 32,00%), il contenuto in grasso della carne (risp. - 14,00% e - 26,00%), la digeribilità (risp. 4,00% e 7,00% per le prot. dig. dopo digestione pepsinica "in vitro") e la tenerezza di quest'ultima (risp. - 26,00% e - 42,00% per il tessuto connettivo dopo digestione tripsinica "in vitro") nonché la pigmentazione della cute.

Utilizzato ad un dosaggio più basso (100 p.p.b.) il selenio non ha arrecato apprezzabili vantaggi.

**SUMMARY** - Selenium in the feeding ducks.

The Authors refer the results of a research about the use of selenium as an integrator of ducks feeding. Added to rations at the doses of 200 and 300 p.p.b. selenium has positively influenced the weight gain (resp. 9,50% and 15,00%), the feed utilization (resp. 14,00% and 21,00%), the killing percentage (resp. + 5,00% and + 8,50%), the meat yield (resp. + 16,00% and + 24,00%), the fat yield (resp. - 22,00% and - 32,00%), the fat content of meat (resp. - 14,00% and - 26,00%), meat digestibility (resp. 4,00% and 7,00% of digestible protein after "in vitro" pepsinic digestion) and tenderness (resp. - 26,00% and - 42,00% of connective tissue after "in vitro" tripsinic digestion) and the skin pigmentation. At lower dose (100 p.p.b.) selenium doesn't seem to have any appreciable effect.

**RESUME** - Le sélénium dans l'alimentation des canards à viande.

Les auteurs présentent les résultats obtenus à la suite d'une expérimentation sur l'utilisation de le sélénium, dans le rôle d'intégrateur, pour l'alimentation des canards à viande.

Le sélénium, ajoutée à l'aliment à des doses de 200 et 300 p.p.b. a eu des effets positifs sur la vitesse de croissance (resp. +9,50 % et +15,00 %), sur l'utilisation de l'aliment (resp. +14,00 % et +21,00 %), sur le rendement de la carcasse (resp. +5,00

% et +8,50 %), en viande (resp. +16,00 % et +24,00 %) et en gras de déposition (resp. -22,00 % et -32,00 %), et le contenu en gras de la viande (resp. -14,00 % et -26,00%), la digérabilité (resp. 4,00 % et 7,00 % pour les protéines digestibles après digestion avec pepsine “in vitro”) et au degré de tendreté (resp. -26,00% et -42,50% pour le tissu conjonctif après digestion avec trypsine “in vitro”). Utilisée à dose moins élevée (100 p.p.m.), le sélénium il n’a pas apporté des avantages appréciables.

### *Bibliografia*

- 1) MASOERO P., GIULIO L. e FERRARA B. - Fisiologia della Nutrizione , Ed. UTET, Torino, 1980.
- 2) WINTER K.A. e GUPTA U.C. – Can. J. Anim. Sci., 59, 107, 1979.
- 3) MILTIMORE J.E., VAN RYSWYK A.L., PRINGLE W.L., CHAPMAN F.M. e KALNIN C.M. - Can. J. Anim. Sci., 55, 101, 1975.
- 4) ALLAWAY W.H., MOORE D.P., OLDFIELD J.E. e MUTH O.M. - J. Nutr., 88, 411, 1966.
- 5) ALLAWAY W. H. - Proc. Georgia Nutr. Conf., pag. 61, 1969.
- 6) PALLAVICINI G., CALAMARI L., BERTONI G. e QUADRI E. - Atti Soc. It. di Buiatria, Vol. XIV, 393, 1982.
- 7) KUBOTA J., ALLAWAY W.H., CARTER D.L., CARY E.E. e LAZAR V.A.-J . Agr. Food. Chem., 15, 448, 1967.
- 8) National Research Council - “Selenium in Nutrition” , Nat. Acad. Sci., National Research Council, D.C., 1971.
- 9) JOHNSON C.M. – Residue Reviews, 62, 101, 1976.
- 10) CLARKE E.C.G. e CLARKE M.L.- Vet. Toxicology, Baillière Tindall, 1975.
- 11) LEIPOLD H.W., HOUSTON K., HULBERT L.C., GUFFY M. e DENNIS S.M.- Cornell Vet., 64,123,1974.
- 12) UNDERWOOD E.J. - “The mineral Nutrition of Livestock”. The Central Press (Aberdeen) Ltd., 204, 1966.
- 13) DVORAK V., SCEMOVIC J. e BOVET F.H. - Rev. Suisse Agr., 13, 3, 103, 1981.
- 14) ANDREWS E.D., HARTLEY W.J. e GRANT A.B. - N.Z. Vet. J., 16, 3, 1968.
- 15) BISBJERG B., JOCHUMSEN P. e RASBECH N.O. - Nord. Vet. Med., 22, 532, 1970.
- 16) MAUS R.W., MARTZ F.A., BELYEA R.L. e WEISS M.F. - J. Dairy Sci., 63, 532, 1980.
- 17) HIDIROGLOU M. e JENKINS K.J. - Can. J. Anim. Sci., 53, 345, 1973.
- 18) HIDIROGLOU M. e JENKINS K.J.- Can. J. Anim. Sci, 53, 527, 1973.
- 19) MARTIN J.L. e GERLACH M.L.- “Selenium Metabolism in Animals”. Am. N.Y. Acad. Sci., 192, 1972.
- 20) Mc CONNELL K.P., HSU J.M., HERMANN J.L. e ANTHONY W.L. - in “Trace Elements Metabolism in Animals”. Ed. University Park Press, Baltimore, MD., 1974.

- 21) ENSMINGER M.E. e OLENTINE C.G.Jr. – “Feeds and Nutritim”, The Ensminger Publishing Company, Cal. 93612, 1978.
- 22) BLOOD D.C., HENDERSEN J.A. e RADOSTITS O.M. – “Veterinary Medicine. Selenium and or vit. E Deficiencies”, Ballière Tindall, 1979.
- 23) HOEKSTRA W.G. - Fed. Proc., 34, 2083, 1975.
- 24) NUGTEREN D.H., NAZELHOF E.- Biochim, Biophys. Acta, 326, 448, 1973.
- 25) FLOHE L. – Symposium on Selenium, Tellurium in the Environment, Industrial Health Foundation Inc., 293, 1976.
- 26) BURK R.F. - World Rev. Nutr. Diet., 30, 88, 1978.
- 27) EGGLESTON L.V. e KREBS H.A. - Biochem J., 183, 425, 1974.
- 28) GYANG E.O. - Am. J. Vet. Res., 45, 1, 175, 1984.
- 29) TRINDER N. - Vet. Ann., 15, 37, 1975.
- 30) NRC – “Nutrient Requirements of Domestic animals. N. 3. Nutrient Requirements of Dairy Cattle”- National Research Council, D.C., 1971.
- 31) NRC – “Nutrient Requirements of Domestic animals. Nutrient Requirements of Sheep” - National Research Council, D.C., 1974.
- 32) NRC – “Nutrient Requirements of Domestic animals. N. 4. Nutrient Requirements of Beef Cattle”- National Research Council, D.C., 1970.
- 33) DOSSING F. - Dansk Vet Tidsskr., 66, 438, 1983.
- 34) ALLEN W.M., PARR W.H., ANDERSON P.H., BERRET S., BRADLEY R. e PATTERSON D.S.P. - Vet. Rec., 96, 360, 1975.
- 35) ANDERSON P.H., BERRET S. e PATTERSON D.S.P. - Vet. Rec., 99, 316, 1976.
- 36) GITTER M. e BRADLEY R. - Vet. Rec., 103, 24, 1978.
- 37) BARTON C.R.Q. e ALLEN W.M. - Vet. Rec., 92, 288, 1973.
- 38) CAWLEY G.D. e BRADLEY R. - Vet. Rec., 103, 239, 1978.
- 39) JOHNSON W.S. e MURRAY I.S. – Vet. Rec., 97, 176, 1975.
- 40) CHALMERS G.A., DECAIRE M., ZECHAR C.G. e BARRETT M.W. - Can. Vet. J., 20, 105, 1978.
- 41) CHRISTL H. Jr. - Deutsche Tierarzt. Wschr., 78, 204, 1970.
- 42) MARTELLI P. - Obiettivi e Documenti Veterinari, 7, 2/3, 19, 1986.
- 43) TRINDER N. e RENTON C.P.- Vet. Rec., 93, 641, 1973.
- 44) TRINDER N., WOODHOUSE C.D. e RENTON C.P. - Vet. Rec. 85, 550, 1969.
- 45) A.R.C. - “The Nutrient requirements of Ruminant Livestock”, Commonwealth Agricultural Boureaux, 1980.
- 46) Mc COY J.E.M. e WESWIG P.M. -J. Nutr., 98, 383, 1969.
- 47) BROWN D.G. e BURK R.F. – J. Nutr., 103, 102, 1973.
- 48) CALVIN H.I., COOPER J.W. e WALLACE E. - Gamete Res., 4, 139, 1981.
- 49) MAHAN D.C., PENHALE L.M., CLINE J.H., MOXON A.L., FETTER A.W. e YARRINGTON J.T. - J. Anim. Sci., 39, 536, 1974.

- 50) PIATKOWSKI T.C., MAHAN D.C., CANTOR A.H., MOXON A.L., CLINE J.H. e GRIFO A.P. Jr. - *J. Anim. Sci.*, 48, 1537, 1979.
- 51) HARTLEY W.Y. e GRANT A.B. - *Fed. Proc.*, 20, 679, 1961.
- 52) SCHWARTZ K. e FOLTZ C.M. - *J. Amer. Chem. Soc.*, 79, 3292, 1957.
- 53) KIRCHGESSNER M., HARTMANN S., EDER K. - *J. Anim. Physiol. and Anim. Nutr.*, 73, 2, 77-85, 1995.
- 54) MAHAM DC., CLINE TR, RICHERT B. - *J. Anim. Sci.*, 77, 8, 2172-2179, 1999.
- 55) ZHOU ZD., SUN LZ., HUANG JF., LI Y. - *Chinese J. of Vet. Med.*, 22, 9, 23-24, 1996.
- 56) BONOMI A., QUARANTELLI A., SABBIONI A., SUPERCHI P.- *Riv. Soc. It. Sci. Alim.*, 17, 5, 393-404, 1988.
- 57) BONOMI A., BONOMI B.M., QUARANTELLI A., SABBIONI A., SUPERCHI P. - *Riv. Sci. Alim.*, 30, 2001.
- 58) BONOMI A., BONOMI B.M., QUARANTELLI A., SABBIONI A., SUPERCHI P.- *Riv. Sci. Alim.*, 30, 2001.
- 59) BONOMI A., BONOMI B.M., QUARANTELLI A., ORLANDI A. - *Riv. Sci. Alim.*, 30, 2001.
- 60) BONOMI A. - *Riv. Sci. Alim.*, 30, 2001.
- 61) BONOMI A. - *Riv. Suinicoltura*, 42, 2001.
- 62) BONOMI A., BONOMI B.M., FORMAGGIONI P., SUPERCHI P. - *Riv. Sci. Alim.*, 30, 2001.
- 63) BONOMI A., BONOMI B.M., SABBIONI A. - *Riv. Suinicoltura*, 42, 2001.
- 64) BONOMI A: - *Riv. Avicoltura*, 70, 2001.
- 65) BONOMI A: - *Riv. Avicoltura*, 70, 2001.
- 66) BONOMI A: - *Riv. Avicoltura*, 70, 2001.
- 67) BONOMI A., BONOMI B.M., QUARANTELLI A. - *Riv. Avicoltura*, 70, 2001.
- 68) A.S.P.A. - Commissione Valutazione Alimenti - Valutazione degli alimenti di interesse zootecnico. 1. Analisi chimica. *Zoot. Nutr. Anim.*, 6, 1-19, 1980.
- 69) TAM G.K.M., LACROIS G. - *J.A.O.A.C.*, 65, 647, 1982.
- 70) BONOMI A., LUCCHELLI L., ANGHINETTI A., SABBIONI A., SUPERCHI P., QUARANTELLI A., GUARESCHI G. - *Il Nuovo Progresso Veterinario*, 42, 10, 406, 1987.
- 71) VARLEY H. - *La diagnosi di laboratorio nella pratica clinica*. Ed. Il Pensiero Scientifico, Roma, 1969.
- 72) A.O.A.C. - *Official Methods of Analysis*, Washington D.C., Association of Official Analytical Chemists, 14th ed., 1984.
- 73) KRÜGER H. - "Ein Beitrag zur Objektiven Bestimmung der Fleischqualität von Jungmastrindern". Verlag Paul Parey, Hamburg und Berlin, 1965.
- 74) BONOMI A. - *Avicoltura*, 44, 3, 67, 1975.

## IL SELENIO NELL'ALIMENTAZIONE DEL CONIGLIO DA CARNE <sup>1</sup>

Bonomi A., Bonomi B.M., Quarantelli A.<sup>2</sup>

### *Introduzione*

Le ricerche, di cui al titolo, si inseriscono nel quadro di un vasto piano di lavoro programmato e in corso di svolgimento presso il nostro Dipartimento con la finalità di approfondire le conoscenze in tema di nutrizione oligominerale degli animali in produzione zootecnica.

Circa il ruolo che il selenio è in grado di svolgere nei processi biologici una documentazione abbastanza aggiornata è presente in numerose monografie e in vari trattati (1÷23), ai quali si rimanda.

In questa sede sarà sufficiente menzionare che la funzione esercitata dal selenio nell'ambito della fisiologia animale avviene a livello cellulare attraverso la glutatione perossidasi (GSH-PX) con un meccanismo di protezione delle membrane dai perossidi in senso antiossidante, più precisamente trasformando i perossidi nei meno dannosi alcoli corrispondenti (- ROH) e l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in H<sub>2</sub>O per mezzo del glutatione donatore di idrogeno.

Altre funzioni metaboliche attribuibili al selenio sono l'intervento nella biosintesi delle prostaglandine (24), nella coagulazione del sangue (25), nel metabolismo dell'eme (26) e dei carboidrati (27). Di più: l'oligoelemento interverrebbe in processi infiammatori dei tessuti, stimolando la formazione di anticorpi (13) mentre la sua carenza si rifletterebbe negativamente sull'attività fagocitaria dei polimorfonucleati (28). Si ipotizza l'esistenza di una correlazione fra quest'ultimo fenomeno e la ritenzione della placenta nella specie bovina (29).

Per quanto attiene il fabbisogno in selenio degli animali di interesse zootecnico la letteratura consultata non è e non può essere esauriente; infatti sussistono non poche incertezze sia sulla quantità di selenio necessaria per evitare turbe carenziali sia sulla quantità "ottimale", capace cioè di assicurare il perfetto stato di salute e di produttività.

D'altra parte non si deve dimenticare che il fabbisogno di selenio è legato alla presenza nella razione di altri elementi minerali, quali, ad es., lo zinco, il rame, lo

---

<sup>1</sup> Ricerche effettuate con il contributo finanziario del M.U.R.S.T. (quota 60%).

Indirizzo per corrispondenza: Prof. Alberto Bonomi – Coordinatore della Sezione di Scienza degli Alimenti e della Nutrizione – Via del Taglio, 8 – 43100 Parma – tel 0521-902620 – Fax 0521-902622; e-mail: bonomi @unipr.it

<sup>2</sup> Dipartimento di Produzioni Animali, Biotecnologie Veterinarie, Qualità e Sicurezza degli Alimenti- Sezione di Scienza degli Alimenti e della Nutrizione- Facoltà di Medicina Veterinaria - Università degli Studi di Parma

zolfo ed il ferro che possono condizionare, per quello che si sa, l'assorbimento dell'elemento in questione; inoltre, lo stesso fabbisogno è influenzato dai rapporti che vincolano il selenio, in maniera peraltro ancora in gran parte oscura, ad ormoni e biocatalizzatori organici ed inorganici e dalle circostanze di ordine fisiologico, in cui si trova l'animale, sulle quali agisce, con intensità non sempre ponderabile e misurabile, l'ambiente.

Nei bovini e nei ruminanti in genere il quadro fenomenico di tali sindromi è essenzialmente rappresentato dalla mioglobinuria (34÷39), da forme di mioglobinuria paralitica (40, 41), da scarsa resistenza nei confronti delle malattie infettive (42), da ritenzione placentare (43, 44) e da ipo e infertilità (45÷52).

Nei suini la carenza di selenio influenza negativamente la velocità di crescita, l'utilizzazione dell'alimento, il contenuto di selenio nel sangue, nel fegato e nei muscoli bene spesso sulla base di una sintomatologia caratterizzata da spasmi muscolari, convulsioni ed irregolare svolgimento delle grandi funzioni organiche (53÷55).

Impiegando il selenito di sodio (titolo in Se 46%) abbiamo già condotto una serie di sperimentazioni, che sono andate ad interessare le bovine da latte (56), i vitelli in fase di svezzamento (57), le manzette e le manze (58), i vitelli da macello a carne bianca (59), i vitelloni (60), le scrofe (61), i suini in fase di svezzamento (62) e i suini all'ingrasso (63).

Le nostre ricerche hanno permesso di accertare che l'integrazione delle razioni con selenio è capace di influenzare positivamente l'estrinsecazione delle attitudini produttive degli animali.

Nel piano generale di ricerca, programmato presso il nostro Dipartimento, oltre le suddette sperimentazioni, è stato previsto lo studio del problema relativo all'integrazione con selenio delle razioni per le piccole specie, nei confronti delle quali le notizie riportate in letteratura sono piuttosto scarse.

Sperimentando sul tacchino da carne (64), sulle galline ovaiole (65), sui broilers (66), sulle faraone da carne (67) e sulle anatre da carne (68) è stato possibile osservare che il selenio, contenuto nei mangimi alle dosi di 200 e di 300 p.p.b., è in grado di svolgere un'azione positiva sull'efficienza produttiva degli animali.

Considerati gli ottimi risultati conseguiti abbiamo ritenuto interessante ampliare il campo delle indagini sperimentando sul coniglio da carne.

Scopo delle nostre ricerche è stato quello di osservare:

a) - se l'integrazione delle razioni con selenio fosse in grado di favorire una migliore estrinsecazione delle attitudini produttive degli animali;

b) - se la risposta dei soggetti alle razioni sperimentali, valutabile attraverso l'accrescimento ponderale, l'utilizzazione dell'alimento, lo stato di salute e le caratteristiche quantitative della carne, potesse essere condizionata dal dosaggio dell'oligoelemento, così da consentire l'acquisizione di elementi utili alla definizione del fabbisogno.

### *Materiali e metodi*

La prova è stata condotta su 400 conigli di razza Nuova Zelanda dell'età di circa 30 giorni, tutti maschi appena svezzati e distinti in quattro gruppi di 100 soggetti cadauno, contrassegnati con i numeri dall'1 al 4.

L'allevamento, praticato in gabbie collettive (10 soggetti per ogni gabbia), in condizioni di ambiente uniformi per i vari gruppi, ha avuto la durata di 60 giorni.

I soggetti del gruppo 1, considerato di "controllo", hanno usufruito, durante il primo periodo (dal 30° al 60° giorno) ed il secondo (dal 61° al 90° giorno) di due mangimi completi, la cui composizione è raccolta nella tab. 1.

Per l'alimentazione dei gruppi 2, 3 e 4, considerati "di esperimento", sono stati utilizzati gli stessi mangimi integrati però con selenio nelle rispettive dosi di 100, di 200 e di 300 p.p.b.

E' stato utilizzato selenio sotto forma di selenito di sodio (Se 46%).

Nella tab. 2 sono compendiate i risultati dell'analisi chimica effettuata sui mangimi di 1° e di 2° periodo. La determinazione del contenuto in principi immediati è stata condotta secondo la tecnica consigliata dalla C.V.A. dell'A.S.P.A. (69) mentre per il tenore in selenio è stata adottata la metodica proposta da Tam e Lacroix (70) da noi leggermente modificata per renderla più rapida e semplice nell'esecuzione pratica (71).

Nel corso ed al termine della prova istituita sono stati effettuati i seguenti rilievi:

Tabella 1 - Formulazione dei mangimi composti integrati.

Periodi		1°	2°
Farina di mais	Kg	30.00	40.00
Farina di orzo	"	10.00	10.00
Farina di soia (estr. 50% prot.)	"	12.00	10.00
Farina di girasole (estr. 45% prot.)	"	5.00	5.00
Farina di pesce	"	2.00	2.00
Farina di medica integrale	"	10.00	7.00
Farina di medica dis.	"	4.00	4.00
Crusca di frumento	"	15.00	10.00
Polpe secche di bietola	"	4.00	4.00
Melasso di canna	"	4.00	4.00
Lievito di birra	"	1.00	1.00
Carbonato di calcio	"	1.00	1.00
Fosfato bicalcico	"	1.00	1.00
Cloruro di sodio	"	0.50	0.50
Complesso vit. e oligomin (1)	"	0.50	0.50

(1) - Composizione del complesso vitaminico e oligominerale (per 1 kg) – Vit A: U.I. 4.000.000; Vit. D3: U.I. 400.000; Vit. E: mg 5.000; Vit. B1: mg 400; Vit. B2: mg 800; Vit. B6: mg 500; Vit. B12: mg 4; Vit. PP: mg 4.500; Ac. Pantotenico: mg 3.000; Ac. Folico: mg 300; Colina cloruro: mg 100.000; DL-metionina: mg 50.000; Co: mg 150; Fe: mg 5.000; I: mg 200; Mn: mg 15.000; Cu: mg 200; Zn: mg 10.000; supporto vegetale q.b. a g 1000.

Tabella 2 – Analisi chimica dei mangimi composti integrati.

Periodi		1°	2°
Acqua	%	12.30	12.10
Ceneri gregge	“	7.00	6.60
Proteina greggia	“	19.00	17.00
Sostanze grasse gregge	“	3.30	3.00
Cellulosa greggia	“	10.00	9.60
Estrattivi inazotati	“	48.40	51.70
Selenio	mg/Kg	0.07	0.06

- a) - il controllo giornaliero dello stato di salute degli animali;
- b) - la verifica dell'incremento ponderale individuale e del consumo di alimenti;
- c) - la determinazione di alcuni parametri ematici.

Sui campioni di sangue, prelevati da 10 soggetti scelti nell'ambito di ciascun gruppo, sono stati determinati i contenuti di proteine totali, di albumina, di globuline, di glucosio, di fosfatasi alcalina, di bilirubina totale, di colesterolo totale, di col. HDL, di col. LDL, di trigliceridi, di lipidi totali e di lipoproteine  $\alpha$  e  $\beta$ , di fosfolipidi, di NEFA, con kit della Boehringer Italia;

- d) - l'indagine sul contenuto in grasso delle feci.

Contemporaneamente ai prelievi di sangue, di cui al punto c) sono state raccolte le feci per la determinazione del grasso totale, dei grassi neutri, dei saponi e degli acidi grassi, adottando la metodica di Van de Kramer e coll., descritta da Varley (72);

- e) - il controllo della resa di macellazione e la valutazione delle carcasse alla spoltatura;

- f) - l'analisi chimico-bromatologica della carne secondo la metodica A.O.A.C. (73);

- g) - la determinazione della digeribilità pepsinica "in vitro" della carne, secondo la ben nota tecnica di Sjollem - Wedemeyer;

- h) - la valutazione della tenerezza della carne, secondo il procedimento proposto da Schömborg e Lochmann, elaborato da Krüger (74) e basato sull'impiego della tripsina, adottando gli accorgimenti resi noti da uno di noi in altra memoria (75), alla quale si rimanda;

I dati ottenuti a seguito delle indagini effettuate sono stati sottoposti ad analisi della varianza secondo il metodo dei minimi quadrati, adottando il seguente modello:

$$Y_{ij} = \mu + a_{ij} + e_{ij}$$

dove

$Y_{ij}$  = singola osservazione;

$\mu$  = media generale;

$a_{ij}$  = effetto della dose ( $i = 1, \dots, 4$ );

$e_{ij}$  = effetto casuale residuo.

## Risultati e discussione

### - Lo stato di salute.

Per tutta la durata della prova i conigli alimentati con mangimi contenenti selenio alle dosi di 100, di 200 e di 300 p.p.b. hanno denunciato uno stato di salute del tutto soddisfacente. Parimenti ai controlli il sensorio e le grandi funzioni organiche hanno avuto uno svolgimento sempre regolare senza il riscontro di variazioni comunque riferibili ai particolari regimi alimentari adottati.

Il tasso di mortalità ha toccato quote piuttosto basse (3-4%).

### - L'incremento ponderale ed il consumo di alimenti.

I conigli sono stati pesati individualmente al 30°, al 60° e al 90° giorno di età.

Nella tab. 3 (v. anche grafico 1) sono riportati i risultati ottenuti a seguito dell'elaborazione statistica condotta sui dati primitivi, mentre nella tab. 4 figurano i valori medi relativi agli incrementi ponderali giornalieri.

L'esame delle tabelle mette in evidenza che:

1) - al 30° giorno di età le differenze fra i pesi medi non hanno raggiunto la significatività statistica ( $P > 0,05$ );

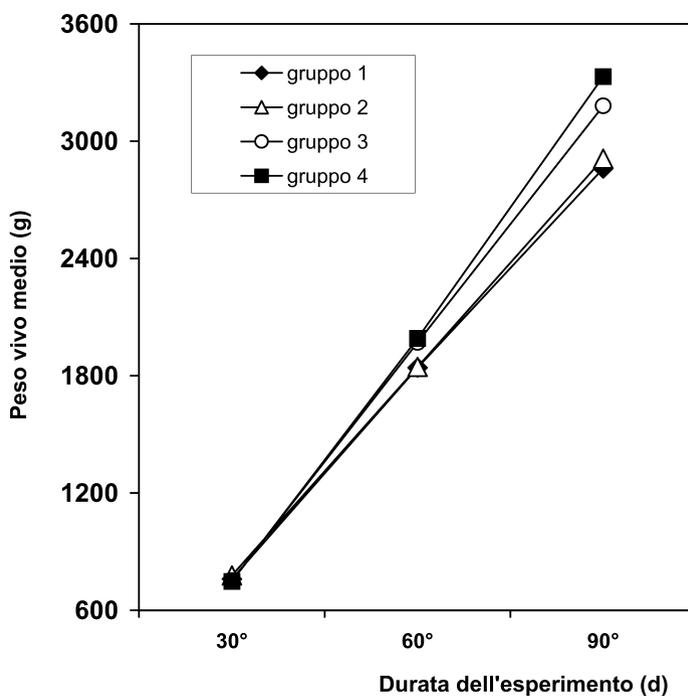


Grafico n. 1 - Accrescimento ponderale

Tabella 3 – Accrescimento ponderale (valori medi  $\pm$  D.S.).

Gruppi		1	2	3	4
Soggetti	n.	100	100	100	100
Durata della prova	d	60	60	60	60
Pesi medi iniziali (al 30° d)	g	760,15 $\pm$ 42,30	778,32 $\pm$ 36,00	751,40 $\pm$ 45,00	747,56 $\pm$ 50,00
Pesi medi al 60° d	g	1.810,41a $\pm$ 70,12	1.845,20a $\pm$ 78,30	1.970,32b $\pm$ 81,20	1.991,43b $\pm$ 84,10
Pesi medi al 90° d	g	2.860,38a $\pm$ 90,60	2.910,34a $\pm$ 100,00	3.180,50b $\pm$ 95,13	3.330,16c $\pm$ 91,40

- a, b, c diversi per  $P < 0,05$ .

Tabella 4 – Incrementi ponderali giornalieri (valori medi  $\pm$  D.S.).

Gruppi		1	2	3	4
30° - 60° d	g	35.00a $\pm$ 2.15	35.60a $\pm$ 2.00	40.70b $\pm$ 2.20	41.50b $\pm$ 2.30
61° - 90° d	g	34.50a $\pm$ 2.38	35.70a $\pm$ 2.40	41.00b $\pm$ 2.51	45.00c $\pm$ 2.43
30° - 90° d	g	34.70a $\pm$ 2.21	35.65a $\pm$ 2.12	40.90b $\pm$ 2.00	43.50c $\pm$ 2.10

- a, b, c diversi per  $P < 0,05$ .

2) - al 60° giorno di età i conigli alimentati con mangime, in cui ha trovato posto il selenio alle dosi di 200 (gruppo 3) e di 300 p.p.b. (gruppo 4) sono stati caratterizzati da una velocità di crescita superiore nei confronti dei controlli (gruppo 1) sulla base di differenze significative ( $P < 0,05$ ) pari, rispettivamente, al 9,00% e al 10,00%. La differenza fra il gruppo 3 e il gruppo 4 non è risultata significativa ( $P > 0,05$ ).

Alla dose di 100 p.p.b. (gruppo 2) il selenio non ha costituito fonte di variazione ( $P > 0,05$ ) per l'accrescimento ponderale;

3) - al 90° giorno di età, cioè al termine della prova, il selenio, contenuto nel mangime alle dosi di 200 p.p.b. (gruppo 3) e di 300 p.p.b. (gruppo 4), ha continuato ad influenzare positivamente la velocità di crescita ( $P < 0,05$ ) con una intensità maggiore rispetto al periodo precedente soprattutto con riferimento al dosaggio più elevato ( $P < 0,05$ ). A paragone con i controlli (gruppo 1) i soggetti dei gruppi 3 e 4 si sono infatti avvantaggiati, nell'ordine, nella misura del 11,50% e del 16,50%. Alla dose di 100 p.p.b. di mangime (gruppo 2) il selenio non ha influenzato, positivamente o negativamente, l'accrescimento ponderale ( $P > 0,05$ ).

Nella tab. 5 (v. anche grafico 2) sono raccolti i risultati relativi agli indici di conversione dell'alimento in carne. Dall'esame della tabella è possibile osservare che i conigli razionati con mangimi addizionati di selenio alle dosi di 200 p.p.b. (gruppo 3) e di 300 p.p.b. (gruppo 4) hanno prodotto il chilogrammo di peso vivo, consumando una quantità di alimento inferiore rispetto a quella richiesta dai controlli (gruppo 1) sulla base di differenze, calcolate per l'intero periodo di allevamento, significative ( $P < 0,05$ ) e pari, nell'ordine, al 11,00% e al 15,00%. Significativa anche la differenza fra il gruppo 3 e il gruppo 4.

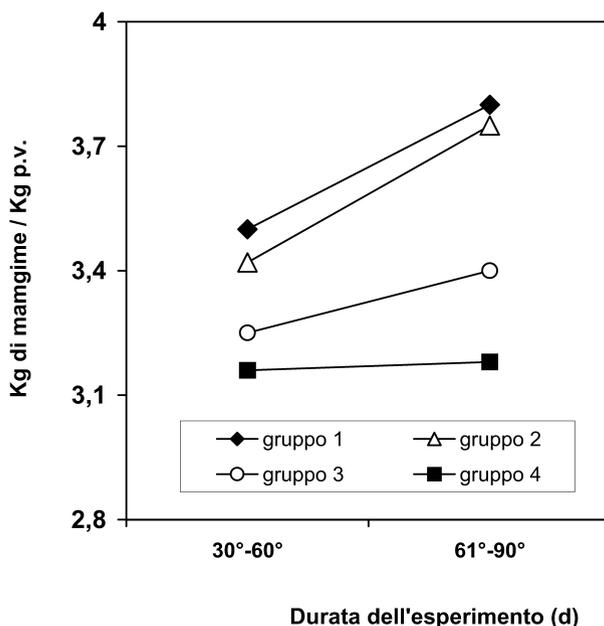


Grafico n. 2 - Indice di conversione

Alla dose di 100 p.p.b. di mangime (gruppo 2) il selenio non ha determinato variazioni ( $P>0,05$ ) negli indici di conversione.

– I parametri ematici.

I risultati ottenuti a seguito delle indagini effettuate sui campioni di sangue prelevati al 30°, al 60° e al 90° giorno di età, sono riuniti nelle tabb. 6 e 7. L'esame delle tabelle permette di rilevare che:

- i contenuti di proteine totali, di albumina e di globuline non hanno subito modificazioni ( $P>0,05$ ) riconducibili ai particolari regimi alimentari adottati;

- il tasso di glucosio ha fatto registrare valori più elevati nei conigli trattati con selenio alle dosi di 200 p.p.b. (gruppo 3) e di 300 p.p.b. di mangime (gruppo 4) in virtù di differenze significative ( $P<0,05$ ), nei confronti dei controlli (gruppo 1), pari, rispettivamente, al 13,00% e al 24,00%. Pure significativa ( $P<0,05$ ) la differenza fra il gruppo 3 e il gruppo 4.

Non è risultata significativa ( $P>0,05$ ) la differenza fra i controlli e i soggetti alimentati con mangimi contenenti selenio alla dose di 100 p.p.b. (gruppo 2);

- i tenori bilirubina totale, di colesterolo totale, di col. HDL, di col. LDL, di trigliceridi, di fosfolipidi, di fosfatasi alcalina, di NEFA e di lipidi totali hanno denunciato valori più bassi nei conigli alimentati con mangimi contenenti selenio alle dosi di 100 p.p.b. (gruppo 2), di 200 p.p.b. (gruppo 3) e di 300 p.p.b. (gruppo 4) in virtù però di differenze, rispetto ai controlli (gruppo 1), che non hanno trovato conferma attraverso l'elaborazione matematico-statistica ( $P>0,05$ );

- le lipoproteine  $\alpha$  e  $\beta$ , determinate nel sangue dei conigli che hanno assunto mangimi integrati con selenio alle dosi di 200 p.p.b. (gruppo 3) e di 300 p.p.b. (gruppo 4) sono state caratterizzate, rispettivamente, da valori più alti e più bassi nei confronti del lipidogramma dei controlli (gruppo 1), in virtù di differenze significative ( $P<0,05$ ) pari, nell'ordine, al 38,00% e al 70,00% per le  $\alpha$ , al 25,00% e al 46,00% per le  $\beta$ .

Differenze significative ( $P<0,05$ ) per entrambi i parametri sono pure emerse dal confronto fra il gruppo 3 e il gruppo 4.

Risultanze che collimano con quelle dei controlli sono state rilevate per i soggetti trattati con selenio alla dose di 100 p.p.b. di mangime (gruppo 2).

D)- Il contenuto in grasso delle feci.

Le risultanze ottenute, compendiate nella tab. 8, mettono in luce che le feci dei conigli razionati con mangimi contenenti selenio alle dosi di 200 p.p.b. (gruppo 3) e di 300 p.p.b. (gruppo 4) presentano valori più bassi di grasso totale e di grassi neutri e più elevati di saponi e di acidi grassi nei confronti con quelle dei controlli (gruppo 1) in virtù di differenze significative ( $P<0,05$ ) pari, nell'ordine, al 9,00% e al 15,50% per il grasso totale, al 43,00% e al 81,00% per i grassi neutri, al 27,00% e al 54,00% per i saponi, al 42,00% e al 82,00% per gli acidi grassi.

Per tutti i parametri significative ( $P<0,05$ ) anche le differenze fra il gruppo 3 e il gruppo 4.

Risultanze che rispecchiano ( $P>0,05$ ) quelle dei controlli sono emerse dal confronto con i conigli trattati con selenio alla dose di 100 p.p.b. di mangime (gruppo 2).

Tabella 5 – Indice di conversione - Kg di mangime/Kg p.v. (valori medi  $\pm$  D.S.).

Gruppi		1	2	3	4
30° - 60° d	Kg	3.50b $\pm$ 0.13	3.42b $\pm$ 0.12	3.25a $\pm$ 0.14	3.16a $\pm$ 0.11
61° - 90° d	Kg	3.80c $\pm$ 0.16	3.75c $\pm$ 0.17	3.40b $\pm$ 0.15	3.18a $\pm$ 0.16
30° - 90° d	Kg	3.70c $\pm$ 0.10	3.62c $\pm$ 0.12	3.30b $\pm$ 0.12	3.15a $\pm$ 0.11

- a, b, c diversi per P<0,05.

Tabella 6 – Parametri ematici (valori medi  $\pm$  D.S.).

Gruppi		1	2	3	4
Proteine totali	g/100 ml	6.13 $\pm$ 0.40	6.20 $\pm$ 0.36	6.27 $\pm$ 0.38	6.29 $\pm$ 0.42
Albumina	g/100 ml	2.50 $\pm$ 0.27	2.61 $\pm$ 0.25	2.63 $\pm$ 0.24	2.62 $\pm$ 0.26
Globuline	g/100 ml	3.63 $\pm$ 0.32	3.59 $\pm$ 0.30	3.64 $\pm$ 0.28	3.67 $\pm$ 0.31
Glucosio	mg/100 ml	130.16a $\pm$ 6.80	134.21a $\pm$ 7.00	147.11b $\pm$ 7.20	161.34c $\pm$ 6.74
Colesterolo tot.	mg/100 ml	160.34 $\pm$ 16.40	154.29 $\pm$ 17.20	151.16 $\pm$ 17.38	149.68 $\pm$ 17.59
Colesterolo HDL	mg/100 ml	58.62 $\pm$ 10.38	54.50 $\pm$ 11.10	51.30 $\pm$ 10.80	50.64 $\pm$ 10.93
Colesterolo LDL	mg/100 ml	90.16 $\pm$ 14.11	87.14 $\pm$ 14.00	83.62 $\pm$ 13.86	80.26 $\pm$ 13.78
Trigliceridi	mg/100 ml	141.30 $\pm$ 18.60	137.29 $\pm$ 17.65	130.13 $\pm$ 18.00	128.15 $\pm$ 18.30
Bilirubina tot.	mg/100 ml	1.70 $\pm$ 0.20	1.64 $\pm$ 0.19	1.61 $\pm$ 0.23	1.56 $\pm$ 0.26
Fosfolipidi	mg/100 ml	110.38 $\pm$ 14.30	103.50 $\pm$ 13.86	100.12 $\pm$ 13.92	98.49 $\pm$ 14.13

- a, b, c diversi per P<0,05.

Tabella 7 – Parametri ematici (valori medi  $\pm$  D.S.).

Gruppi		1	2	3	4
Fosfatasi alcalina	mU/ml	95.40 $\pm$ 14.50	91.63 $\pm$ 13.86	88.64 $\pm$ 14.25	84.32 $\pm$ 13.92
NEFA	mg/l	80.30 $\pm$ 9.35	77.52 $\pm$ 9.66	74.20 $\pm$ 10.18	72.68 $\pm$ 10.00
Lipidi totali	mg/100 ml	490.62 $\pm$ 15.83	484.62 $\pm$ 16.00	478.75 $\pm$ 16.20	476.49 $\pm$ 15.98
Lipoproteine $\alpha$	%	40.10a $\pm$ 8.80	43.71a $\pm$ 9.11	55.26b $\pm$ 9.00	67.80c $\pm$ 8.77
Lipoproteine $\beta$	%	59.90c $\pm$ 8.80	56.29c $\pm$ 9.11	44.74b $\pm$ 9.00	32.20a $\pm$ 8.77
Rapporto $\beta/\alpha$		1.50c $\pm$ 0.27	1.35c $\pm$ 0.30	0.82b $\pm$ 0.25	0.50a $\pm$ 0.23

- a, b, c diversi per  $P < 0,05$ .

Tabella 8 – Contenuto in grasso delle feci (valori medi  $\pm$  D.S. )

Gruppi		1	2	3	4
Grasso totale	%	3.85c $\pm$ 0.15	3.79c $\pm$ 0.14	3.50b $\pm$ 0.16	3.25a $\pm$ 0.17
Grassi neutri	%	2.10c $\pm$ 0.12	2.00c $\pm$ 0.10	1.20b $\pm$ 0.13	0.40a $\pm$ 0.15
Saponi	%	1.20a $\pm$ 0.11	1.25a $\pm$ 0.09	1.52b $\pm$ 0.10	1.85c $\pm$ 0.12
Acidi grassi	%	0.55a $\pm$ 0.08	0.54a $\pm$ 0.07	0.78b $\pm$ 0.07	1.00c $\pm$ 0.09

- a, b, c diversi per  $P < 0,05$ .

#### E) - Le rese di macellazione.

Su 30 conigli, scelti nell'ambito di ciascun gruppo e sacrificati dopo un periodo di digiuno di 12 ore, sono state controllate le rese in: carcassa , quarti anteriori e posteriori, regione lombare, carne, grasso di deposito, ossa, testa e collo, pelle, stinchi, zampe e coda, fegato, complesso "milza, cuore, polmoni, reni e testicoli", stomaco e intestino.

Le risultanze ottenute sono sintetizzate nella tab.9 , la quale consente di osservare che:

- la resa in carcassa a caldo (priva di testa, collo, pelle, stinchi, zampe, coda e di tutti i visceri) ha assunto valori compresi fra il 47,00% e il 55,00%.

Le rese più elevate sono state tuttavia registrate per i conigli razionati con mangimi contenenti il selenio in ragione di 200 p.p.b. (gruppo 3) e di 300 p.p.b. (gruppo 4) sulla base di differenze, rispetto ai controlli (gruppo1), significative ( $P < 0,05$ ) pari, nell'ordine, al 11,00% e al 18,00%. Significativa ( $P < 0,05$ ) anche la differenza fra il gruppo 3 e il gruppo 4.

Non significativa ( $P > 0,05$ ) la differenza fra i controlli e i soggetti alimentati con mangimi addizionati di selenio alla dose di 100 p.p.b. (gruppo 2);

Tabella 9 – Rilievi di macellazione a caldo (% p.v. - valori medi  $\pm$  D.S.).

Gruppi	1	2	3	4
Rese in:				
- carcassa	47.12a $\pm$ 1.13	47.53a $\pm$ 1.15	52.20b $\pm$ 1.16	55.60c $\pm$ 1.14
- quarti anteriori	13.20a $\pm$ 0.52	13.38a $\pm$ 0.48	14.15b $\pm$ 0.55	15.00c $\pm$ 0.50
- quarti posteriori	18.00a $\pm$ 0.60	18.27a $\pm$ 0.56	19.72b $\pm$ 0.54	21.20c $\pm$ 0.61
- lombo	15.92a $\pm$ 0.64	15.88a $\pm$ 0.68	18.33b $\pm$ 0.65	19.40c $\pm$ 0.62
- carne	32.00a $\pm$ 0.94	32.31a $\pm$ 1.00	36.00b $\pm$ 1.10	39.00c $\pm$ 0.95
- grasso	2.56 $\pm$ 0.60	2.50 $\pm$ 0.64	2.90 $\pm$ 0.66	3.10 $\pm$ 0.61
- ossa	12.56 $\pm$ 1.20	12.72 $\pm$ 1.10	13.30 $\pm$ 1.15	13.50 $\pm$ 1.18
- testa e collo	9.62 $\pm$ 0.74	10.00 $\pm$ 0.70	9.80 $\pm$ 0.66	9.40 $\pm$ 0.62
- pelle	12.00 $\pm$ 0.98	11.88 $\pm$ 1.00	11.55 $\pm$ 1.10	11.15 $\pm$ 1.05
- stinchi, zampe e coda	3.60 $\pm$ 0.50	3.72 $\pm$ 0.54	3.50 $\pm$ 0.58	3.30 $\pm$ 0.55
- fegato	2.50 $\pm$ 0.48	2.70 $\pm$ 0.51	2.80 $\pm$ 0.56	2.35 $\pm$ 0.60
- milza, cuore, polmoni, reni e testicoli	2.70 $\pm$ 0.62	2.85 $\pm$ 0.64	2.50 $\pm$ 0.61	2.30 $\pm$ 0.57
- stomaco pieno	4.00 $\pm$ 0.58	4.40 $\pm$ 0.59	4.10 $\pm$ 0.53	4.00 $\pm$ 0.56
- intestino pieno	15.50 $\pm$ 1.20	15.10 $\pm$ 1.18	14.70 $\pm$ 1.22	14.50 $\pm$ 1.24

- a, b, c diversi per  $P < 0,05$ .

- le rese in quarti anteriori, in quarti posteriori, in lombo e in carne dei conigli trattati con selenio alle dosi di 200 p.p.b. (gruppo 3) e di 300 p.p.b. di mangime (gruppo 4) sono più elevate nei confronti di quelle relative ai controlli (gruppo 1) sulla base di differenze significative ( $P < 0,05$ ) pari, rispettivamente, al 7,00% e al 13,50% per i quarti anteriori, al 10,00% e al 18,00% per i quarti posteriori, al 15,00% e al 22,00% per il lombo, al 12,00% e al 22,00% per la carne. Per tutti i parametri le differenze fra il gruppo 3 e il gruppo 4 sono risultate significative ( $P < 0,05$ ). Non significative le differenze emerse dalla comparazione fra i controlli e i soggetti alimentati con mangimi addizionati di selenio alla dose di 100 p.p.b. (gruppo 2);

- le rese in grasso di deposito, in ossa, in testa e collo, in pelle, in stinchi, in zampe e coda, in fegato, nel complesso “milza, cuore, polmoni, reni e testicoli”, in stomaco e in intestino non hanno denunciato variazioni ( $P > 0,05$ ) a seguito dei trattamenti con il selenio ai vari dosaggi previsti.

#### F) – La composizione chimico-bromatologica della carne.

I campioni di carne sono stati sottoposti, previa omogeneizzazione, a disidratazione e successivamente ridotti in polvere prima di procedere alle varie indagini di ordine chimico. E' stata effettuata la determinazione del contenuto in acqua, in ceneri gregge, in proteina greggia e in grasso greggio.

Le risultanze ottenute, riportate nella tab. 10, dimostrano che la carne dei conigli è caratterizzata da una composizione chimico-bromatologica che non ha subito variazioni statisticamente accertabili ( $P>0,05$ ) a seguito del trattamento con selenio ai vari dosaggi considerati.

#### G) - La digeribilità pepsinica “in vitro” della carne.

Sulla carne, essiccata e sgrassata, è stata determinata la digeribilità, seguendo il metodo proposto da Sjollem-Wedemeyer.

I valori medi relativi alla proteina totale, indigerita, digeribile, nonché al coefficiente di digeribilità sono compendati nella tab. 11. Dall'esame della tabella è possibile rilevare che la carne dei conigli trattati con selenio alle dosi di 200 p.p.b. (gruppo 3) e di 300 p.p.b. (gruppo 4) è più digeribile rispetto a quella dei controlli (gruppo 1). Il coefficiente di digeribilità delle proteine è stato infatti caratterizzato da differenze significative ( $P<0,05$ ) pari, nell'ordine, al 5,00% e al 7,50%. Significativa ( $P<0,05$ ) anche la differenza fra il gruppo 3 e il gruppo 4. Utilizzato alla dose di 100 p.p.b. di mangime (gruppo 2) il selenio non ha rappresentato fonte di variazione per la digeribilità della carne ( $P>0,05$ ).

#### H) - La tenerezza della carne.

Per la valutazione della tenerezza della carne è stato impiegato il procedimento proposto da Schönberg e Lochmann, elaborato da Krüger, basato sul ricorso alla tripsina. Con il medesimo procedimento si opera su carne essiccata e sgrassata che viene sottoposta a digestione enzimatica per 96 ore. Al termine di tale periodo la sostanza indigerita è rappresentata quasi totalmente dal tessuto connettivo.

Nella tab. 12 sono racchiuse le risultanze ottenute, le quali permettono di osservare che la carne dei conigli razionati con mangimi addizionati di selenio alle dosi di 200 p.p.b. (gruppo 3) e di 300 p.p.b. (gruppo 4) è più tenera nei confronti di quella dei controlli (gruppo 1). Le differenze fra i contenuti di sostanza indigerita sono significative ( $P<0,05$ ) e pari, rispettivamente, al 34,50% e al 48,00%.

Ha raggiunto la significatività statistica ( $P<0,05$ ) anche la differenza fra il gruppo 3 e il gruppo 4.

Non ha invece trovato conferma ( $P>0,05$ ) la differenza fra i controlli e i soggetti trattati con selenio alla dose di 100 p.p.b. di mangime (gruppo 2).

### *Conclusioni*

I rilievi effettuati e le osservazioni tratte rendono possibile la formulazione delle seguenti considerazioni e conclusioni:

1) – il selenio, utilizzato nel ruolo di integratore, alle dosi di 200 e di 300 p.p.b. di mangime ha condizionato favorevolmente l'accrescimento ponderale dei conigli, soprattutto in corrispondenza del dosaggio più elevato.

Al termine del ciclo produttivo (90 giorni di età) i soggetti così trattati si sono avvantaggiati, rispetto ai controlli, in virtù di differenze pari, nell'ordine, al 11,50% e al 16,50%, facendo nel contempo registrare un indice di conversione dell'alimento inferiore del 11,00% e del 15,00%;

Tabella 10 – Composizione chimico-bromatologica della carne (valori medi  $\pm$  D.S.).

Gruppi		1	2	3	4
Acqua	%	74.00 $\pm$ 0.58	73.78 $\pm$ 0.61	73.55 $\pm$ 0.63	73.60 $\pm$ 0.60
Ceneri gregge	“	1.45 $\pm$ 0.17	1.42 $\pm$ 0.18	1.38 $\pm$ 0.14	1.35 $\pm$ 0.12
Proteina greggia	“	22.31 $\pm$ 0.43	22.45 $\pm$ 0.46	22.50 $\pm$ 0.50	22.61 $\pm$ 0.48
Sostanze grasse gregge	“	2.20 $\pm$ 0.24	2.10 $\pm$ 0.21	2.15 $\pm$ 0.23	2.18 $\pm$ 0.22

Tabella 11 – Digeribilità pepsinica "in vitro" della carne (valori medi  $\pm$  D.S.).

Gruppi		1	2	3	4
Proteine totali	%	22.31 $\pm$ 0.43	22.45 $\pm$ 0.46	22.50 $\pm$ 0.50	22.61 $\pm$ 0.48
Proteine indigerite	“	2.70c $\pm$ 0.38	2.64c $\pm$ 0.45	1.80b $\pm$ 0.40	1.30a $\pm$ 0.37
Proteine digeribili	“	19.61a $\pm$ 0.32	19.81a $\pm$ 0.30	20.70b $\pm$ 0.37	21.31c $\pm$ 0.35
Coefficiente di digeribilità	“	87.90a $\pm$ 1.28	88.20a $\pm$ 1.35	92.00b $\pm$ 1.46	94.30c $\pm$ 1.40

- a, b, c diversi per  $P < 0,05$ .

Tabella 12 – Digestione tripsinica “in vitro” della carne. Sostanza indigerita espressa in % sulla carne essiccata e sgrassata (valori medi  $\pm$ D.S.).

Gruppi	Sostanza indigerita
1	2.75c $\pm$ 0.30
2	2.50c $\pm$ 0.37
3	1.80b $\pm$ 0.31
4	1.42a $\pm$ 0.28

- a, b, c diversi per  $P < 0,05$ .

2) – il selenio, agli stessi dosaggi, ha influenzato positivamente le rese in carcassa (risp. 11,00% e 16,00%), in quarti anteriori (risp. 7,00% e 13,50%), in quarti posteriori (risp. 10,00% e 18,00%), in lombo (risp. 15,00% e 22,00%) e in carne (risp. 12,00% e 22,00%) e alcune caratteristiche qualitative di quest’ultima con riferimento al grado di digeribilità (risp. 5,00% e 7,50% per le prot. dig. dopo digestione pepsinica “in vitro”) e al grado di tenerezza (risp. – 34,50% e – 48,00% per il tessuto connettivo dopo digestione tripsinica “in vitro”). Anche per questi parametri le migliori risultanze sono state ottenute impiegando l’oligoelemento alla dose di 300 p.p.b.;

3) – effetti di scarso rilievo sull’estrinsecazione delle attitudini produttive dei conigli sono stati esercitati dal selenio alla sua dose di impiego di 100 p.p.b.;

4) – il selenio, a prescindere dal dosaggio, non ha costituito fonte di variazione per lo stato sanitario dell’allevamento.

Sulla base dei risultati ottenuti ci sembra di poter ammettere che il selenio, in qualità di integratore, è in grado di migliorare l’efficienza produttiva dei conigli.

Circa il dosaggio dell’oligoelemento crediamo di poter consigliare una quota compresa fra le 200 e le 300 p.p.b. di mangime.

Dal punto di vista biologico i reperti registrati possono trovare una spiegazione alla luce dei risultati sortiti dalle indagini condotte a livello ematico.

Il selenio ha infatti determinato aumenti dei tassi di glucosio e di lipoproteine  $\alpha$  e riduzioni dei tenori di bilirubina totale, di colesterolo totale, HDL e LDL, di trigliceridi, di fosfolipidi, di fosfatasi alcalina, di NEFA e di lipidi totali, reperti questi che testimoniano per la capacità dell’oligoelemento di svolgere un ruolo importante in seno ai metabolismi glucidico e lipidico.

A proposito di quest’ultimo fa d’uopo inoltre ricordare che il selenio è in grado di svolgere un’azione positiva sulla digeribilità dei grassi come documentato dall’aumento delle lipoproteine  $\alpha$  nel sangue e del contenuto di saponi e di acidi grassi nelle feci.

Le indagini stanno proseguendo per acquisire più ampie informazioni sul meccanismo d’azione e sulle funzioni metaboliche del selenio.

**Parole chiave:** selenio, integrazione razione, conigli da carne.

**Key words:** selenium, ration integration, rabbits.

**Mots-clefs:** sélénium, intégration de ration, lapins.

**RIASSUNTO** - Gli Autori espongono i risultati ottenuti a seguito di un esperimento circa l'impiego del selenio, nel ruolo di integratore, nell'alimentazione dei conigli da carne. Il selenio, addizionato ai mangimi alle dosi di 200 e di 300 p.p.b. durante l'intero ciclo di allevamento (dal 30° al 90° giorno di età), ha determinato effetti positivi sulla velocità di crescita (risp. 11,50% e 16,50%), sull'utilizzazione dell'alimento (risp. 11,00% e 15,00%), sulle rese in carcassa (risp. 11,00% e 16,00%), in quarti anteriori (risp. 7,00% e 13,50%), in quarti posteriori (risp. 10,00% e 18,00%), in lombo (risp. 15,00% e 22,00%) e in carne (risp. 12,00% e 22,00%) e su alcune caratteristiche qualitative di quest'ultima con riferimento al grado di digeribilità (risp. 5,00% e 7,50% per le prot. dig. dopo digestione pepsinica "in vitro") e al grado di tenerezza (risp. - 34,50% e - 48,00% per il tessuto connettivo dopo digestione tripsinica "in vitro"). Utilizzato ad un dosaggio più basso (100 p.p.b.) il selenio è risultato meno efficace.

**SUMMARY** – Selenium in the feeding of the rabbits.

The Authors refer the results of research about the use of selenium as an integrator of rabbits feeding. Added to rations at the doses of 200 and 300 p.p.b. (from 30 to 90 d of age) selenium has positive effects on the weight gain (resp. 11,50% and 16,50%), the feed utilization (resp. 11,00% and 15,00%), the carcass (resp. 11,00% and 16,00%), the fore quarters (resp. 7,00% and 13,50%), the rear quarters (resp. 10,00% and 18,00%), the loin (resp. 15,00% and 22,00%), the meat yield (resp. 12,00% and 22,00%), the meat digestibility (resp. 5,00% and 7,50% of digestible protein after "in vitro" pepsinic digestion) and tenderness (resp. -34,50% and -48,00% of connective tissue after "in vitro" tripsinic digestion).

At the lower dose (100 p.p.b.) selenium doesn't seem to have any appreciable effect.

**RESUME** - Le sélénium dans l'alimentation des lapins.

Les auteurs présentent les résultats obtenus à la suite d'une expérimentation sur l'utilisation du sélénium, dans le rôle d'intégrateur pour l'alimentation de lapins. Le sélénium, ajoutée à l'aliment à des doses de 200 et 300 p.p.b., pendant tout le cycle de l'élevage (du 30° au 90° jour âgé) a eu des effets positifs sur la vitesse de croissance (resp. 11,50% et 16,50%), sur l'utilisation de l'aliment (resp. 11,00% et 15,00%), sur le rendement en carcasse (resp. 11,00% et 16,00%), sur les quarts antérieurs (resp. 7,00% et 13,50%), sur les quarts posterior (resp. 10,00% et 18,00%), en lombo (resp. 15,00% et 22,00%) et le rendement en viande (resp. 12,00% et 22,00%), la digestibilité de la viande (resp. 5,00% et 7,50% pour les protéine digestible après digestion pepsinic) "in vitro" et au degré de tendreté (resp. -34,50% et -48,00% pour le tissu connectif après digestion tripsinic) "in vitro". Utilisé à dose moins élevée (100 p.p.b.) le sélénium ne semble pas n'avoir aucun effet appréciable.

## *Bibliografia*

- 1) MASOERO P., GIULIO L. e FERRARA B. - Fisiologia della Nutrizione , Ed. UTET, Torino, 1980.
- 2) WINTER K.A. e GUPTA U.C. – Can. J. Anim. Sci., 59, 107, 1979.
- 3) MILTIMORE J.E., VAN RYSWYK A.L., PRINGLE W.L., CHAPMAN F.M. e KALNIN C.M. - Can. J. Anim. Sci., 55, 101, 1975.
- 4) ALLAWAY W.H., MOORE D.P., OLDFIELD J.E. e MUTH O.M. - J. Nutr., 88, 411, 1966.
- 5) ALLAWAY W. H. - Proc. Georgia Nutr. Conf., pag. 61, 1969.
- 6) PALLAVICINI G., CALAMARI L., BERTONI G. e QUADRI E. - Atti Soc. It. di Buiatria, Vol. XIV, 393, 1982.
- 7) KUBOTA J., ALLAWAY W.H., CARTER D.L., CARY E.E. e LAZAR V.A.-J . Agr. Food. Chem., 15, 448, 1967.
- 8) National Research Council - “Selenium in Nutrition” , Nat. Acad. Sci., National Research Council, D.C., 1971.
- 9) JOHNSON C.M. – Residue Reviews, 62, 101, 1976.
- 10) CLARKE E.C.G. e CLARKE M.L.- Vet. Toxicology, Baillière Tindall, 1975.
- 11) LEIPOLD H.W., HOUSTON K., HULBERT L.C., GUFFY M. e DENNIS S.M.- Cornell Vet., 64,123,1974.
- 12) UNDERWOOD E.J. - “The mineral Nutrition of Livestock”. The Central Press (Aberdeen) Ltd., 204, 1966.
- 13) DVORAK V., SCEMOVIC J. e BOVET F.H. - Rev. Suisse Agr., 13, 3, 103, 1981.
- 14) ANDREWS E.D., HARTLEY W.J. e GRANT A.B. - N.Z. Vet. J., 16, 3, 1968.
- 15) BISBJERG B., JOCHUMSEN P. e RASBECH N.O. - Nord. Vet. Med., 22, 532, 1970.
- 16) MAUS R.W., MARTZ F.A., BELYEA R.L. e WEISS M.F. - J. Dairy Sci., 63, 532, 1980.
- 17) HIDIROGLOU M. e JENKINS K.J. - Can. J. Anim. Sci., 53, 345, 1973.
- 18) HIDIROGLOU M. e JENKINS K.J.- Can. J. Anim. Sci, 53, 527, 1973.
- 19) MARTIN J.L. e GERLACH M.L.- “Selenium Metabolism in Animals”. Am. N.Y. Acad. Sci., 192, 1972.
- 20) Mc CONNELL K.P., HSU J.M., HERMANN J.L. e ANTHONY W.L. - in “Trace Elements Metabolism in Animals”. Ed. University Park Press, Baltimore, MD., 1974.
- 21) ENSMINGER M.E. e OLENTINE C.G.Jr. – “Feeds and Nutritim”, The Ensminger Publishing Company, Cal. 93612, 1978.
- 22) BLOOD D.C., HENDERSEN J.A. e RADOSTITS O.M. – “Veterinary Medicine. Selenium and or vit. E Deficiencies” , Ballière Tindall, 1979.
- 23) HOEKSTRA W.G. - Fed. Proc., 34, 2083, 1975.
- 24) NUGTEREN D.H., NAZELHOF E.- Biochim, Biophys. Acta, 326, 448, 1973.

- 25) FLOHE L. – Symposium on Selenium, Tellurium in the Environment, Industrial Health Foundation Inc., 293, 1976.
- 26) BURK R.F. - World Rev. Nutr. Diet., 30, 88, 1978.
- 27) EGGLESTON L.V. e KREBS H.A. - Biochem J., 183, 425, 1974.
- 28) GYANG E.O. - Am. J. Vet. Res., 45, 1, 175, 1984.
- 29) TRINDER N. - Vet. Ann., 15, 37, 1975.
- 30) NRC – “Nutrient Requirements of Domestic animals. N. 3. Nutrient Requirements of Dairy Cattle”- National Research Council, D.C., 1971.
- 31) NRC – “Nutrient Requirements of Domestic animals. Nutrient Requirements of Sheep” - National Research Council, D.C., 1974.
- 32) NRC – “Nutrient Requirements of Domestic animals. N. 4. Nutrient Requirements of Beef Cattle”- National Research Council, D.C., 1970.
- 33) DOSSING F. - Dansk Vet Tidsskr., 66, 438, 1983.
- 34) ALLEN W.M., PARR W.H., ANDERSON P.H., BERRET S., BRADLEY R. e PATTERSON D.S.P. - Vet. Rec., 96, 360, 1975.
- 35) ANDERSON P.H., BERRET S. e PATTERSON D.S.P. - Vet. Rec., 99, 316, 1976.
- 36) GITTER M. e BRADLEY R. - Vet. Rec., 103, 24, 1978.
- 37) BARTON C.R.Q. e ALLEN W.M. - Vet. Rec., 92, 288, 1973.
- 38) CAWLEY G.D. e BRADLEY R. - Vet. Rec., 103, 239, 1978.
- 39) JOHNSON W.S. e MURRAY I.S. – Vet. Rec., 97, 176, 1975.
- 40) CHALMERS G.A., DECAIRE M., ZECHAR C.G. e BARRETT M.W. - Can. Vet. J., 20, 105, 1978.
- 41) CHRISTL H. Jr. - Deutsche Tierarzt. Wschr., 78, 204, 1970.
- 42) MARTELLI P. - Obiettivi e Documenti Veterinari, 7, 2/3, 19, 1986.
- 43) TRINDER N. e RENTON C.P.- Vet. Rec., 93, 641, 1973.
- 44) TRINDER N., WOODHOUSE C.D. e RENTON C.P. - Vet. Rec. 85, 550, 1969.
- 45) A.R.C. - “The Nutrient requirements of Ruminant Livestock”, Commonwealth Agricultural Boureaux, 1980.
- 46) Mc COY J.E.M. e WESWIG P.M. -J. Nutr., 98, 383, 1969.
- 47) BROWN D.G. e BURK R.F. – J. Nutr., 103, 102, 1973.
- 48) CALVIN H.I., COOPER J.W. e WALLACE E. - Gamete Res., 4, 139, 1981.
- 49) MAHAN D.C., PENHALE L.M., CLINE J.H., MOXON A.L., FETTER A.W. e YARRINGTON J.T. - J. Anim. Sci., 39, 536, 1974.
- 50) PIATKOWSKI T.C., MAHAN D.C., CANTOR A.H., MOXON A.L., CLINE J.H. e GRIFO A.P. Jr. - J. Anim. Sci., 48, 1537, 1979.
- 51) HARTLEY W.Y. e GRANT A.B. - Fed. Proc., 20, 679, 1961.
- 52) SCHWARTZ K. e FOLTZ C.M. – J. Amer. Chem. Soc., 79, 3292, 1957.
- 53) KIRCHGESSNER M., HARTMANN S., EDER K. – J. Anim. Physiol. and Anim. Nutr., 73, 2, 77-85, 1995.

- 54) MAHAM DC., CLINE TR, RICHERT B. – J. Anim. Sci., 77, 8, 2172-2179, 1999.
- 55) ZHOU ZD., SUN LZ., HUANG JF., LI Y. – Chinese J. of Vet. Med., 22, 9, 23-24, 1996.
- 56) BONOMI A., QUARANTELLI A., SABBIONI A., SUPERCHI P.- Riv. Soc. It. Sci. Alim., 17, 5, 393-404, 1988.
- 57) BONOMI A., BONOMI B.M., QUARANTELLI A., SABBIONI A., SUPERCHI P. – Riv. Sci. Alim., 30, 2001.
- 58) BONOMI A., BONOMI B.M., QUARANTELLI A., SABBIONI A., SUPERCHI P.- Riv. Sci. Alim., 30, 2001.
- 59) BONOMI A., BONOMI B.M., QUARANTELLI A., ORLANDI A. – Riv. Sci. Alim., 30, 2001.
- 60) BONOMI A. – Riv. Sci. Alim., 30, 2001.
- 61) BONOMI A. – Riv. Suinicoltura, 42, 2001.
- 62) BONOMI A., BONOMI B.M., FORMAGGIONI P., SUPERCHI P. – Riv. Sci. Alim., 30, 2001.
- 63) BONOMI A., BONOMI B.M., SABBIONI A. – Riv. Suinicoltura, 42, 2001.
- 64) BONOMI A. - Riv. Avicoltura, 70, 2001.
- 65) BONOMI A. - Riv. Avicoltura, 70, 2001.
- 66) BONOMI A. - Riv. Avicoltura, 70, 2001.
- 67) BONOMI A., BONOMI B.M., QUARANTELLI A. – Riv. Avicoltura, 70, 2001.
- 68) BONOMI A., BONOMI B.M., QUARANTELLI A. – Annali Fac. Med. Vet. di Parma, 2001.
- 69) A.S.P.A. - Commissione Valutazione Alimenti - Valutazione degli alimenti di interesse zootecnico. 1. Analisi chimica. Zoot. Nutr. Anim., 6, 1-19, 1980.
- 70) TAM G.K.M., LACROIS G. – J.A.O.A.C., 65, 647, 1982.
- 71) BONOMI A., LUCCHELLI L., ANGHINETTI A., SABBIONI A., SUPERCHI P., QUARANTELLI A., GUARESCHI G. – Il Nuovo Progresso Veterinario, 42, 10, 406, 1987.
- 72) VARLEY H. – La diagnosi di laboratorio nella pratica clinica. Ed. Il Pensiero Scientifico, Roma, 1969.
- 73) A.O.A.C. - Official Methods of Analysis, Washingt D.C., Association of Official Analytical Chemists, 14th ed., 1984.
- 74) KRÜGER H. – “Ein Beitrag zur Obiektiven Bestimmung der Fleischqualität von Jungmastrindern”. Verlag Paul Parey, Hamburg und Berlin, 1965.
- 75) BONOMI A. – Avicoltura, 44, 3, 67, 1975.

## RILIEVI BIOCHIMICO CLINICI E PERFORMANCE IN TACCHINI DA CARNE ALIMENTATI CON L'ADDIZIONE DI *Bacillus Cereus var. Toyoi*

### BIOCHEMICAL FINDINGS AND PERFORMANCES IN TURKEY FED WITH *Bacillus Cereus var. Toyoi*

Fusari A.<sup>1</sup>, Renzi M.<sup>2</sup>, Gandolfi L.<sup>3</sup>, Ubaldi A.<sup>1</sup>, Quarantelli A.<sup>2</sup>

#### Introduzione

L'allevamento intensivo degli animali da reddito ha reso indispensabile il ricorso ad additivi alimentari in grado di ridurre l'azione dei numerosi fattori che incidono negativamente sul costo di produzione. Il ricorso ai probiotici per migliorare le performance degli animali, in alternativa agli antibiotici auxinici, rientra in questo contesto ed è da tempo oggetto di studio. Sia gli uni sia gli altri, seppure con modalità diverse, hanno come obiettivo quello di mantenere in condizioni di "normalità ed efficienza" la microflora intestinale, al fine di ottimizzare lo stato di salute dell'animale ospite. Per i promotori di crescita di natura chemioantibiotica sono noti gli effetti positivi sulle performance degli animali, mentre per i probiotici sussistono ancora molte incertezze sui meccanismi d'azione mediante i quali sono in grado di condizionare favorevolmente lo stato di salute degli animali (Fuller, 1989, Sisson, 1989).

Secondo Jin et al. (1997), i probiotici possono operare in ambito intestinale con modalità diverse in funzione della loro capacità di colonizzare l'intestino (microrganismi residenti o transitanti) e delle caratteristiche intrinseche a ciascuno di essi. E' nota, infatti, la capacità di alcuni probiotici di agire nei confronti dei batteri patogeni per esclusione competitiva e/o per attività antagonista. Non meno importante, tuttavia, è anche l'azione che altri probiotici possono svolgere nel lume intestinale producendo enzimi utili all'attività digestiva (Jin et al., 1996) e creando condizioni ottimali per l'animale ospite documentate da una riduzione, a livello ematico, dell'azoto non proteico, dell'acido urico e dell'urea (Isshiki, 1979). Probiotici appartenenti soprattutto al genere *Lactobacillus* sembrano anche in grado di produrre sostanze capaci di neutralizzare le enterotossine rilasciate da batteri coliformi (Mitchell e Kenworthy, 1976), mentre secondo Perdigon et al. (1995) gli stessi probiotici sembrano avere un ruolo importante nello sviluppo di difese immunitarie contro le infezioni enteriche. In animali germ-free il *L. acidophilus* ha elevato il livello delle pro-

---

<sup>1</sup> Dip. di Salute Animale. Sezione di Diagnostica e Tossicologia Sperimentale. Facoltà di Medicina Veterinaria. Università degli Studi di Parma.

<sup>2</sup> Dip. Produzioni Animali, Biotecnologie Veterinarie, Qualità e Sicurezza degli Alimenti. Sezione di Scienza degli Alimenti e della Nutrizione. Facoltà di Medicina Veterinaria. Università degli Studi di Parma.

<sup>3</sup> Medico Veterinario, libero professionista, Mantova.

teine totali sieriche, il tasso di globuline, di albumina ed il numero dei globuli bianchi (Pollman et al., 1980).

Dagli studi eseguiti sui diversi modi di azione dei probiotici emerge che le risposte ottenute, per altro non sempre costanti (Gunther 1994 e Inbarr 1996), sono spesso condizionate da una molteplicità di fattori. Fra quelli che possono essere chiamati in causa non vanno sottovalutate le caratteristiche dei microrganismi utilizzati, i fattori intrinseci all'animale, la velocità di transito intestinale, i fattori di natura alimentare legati alle caratteristiche e alla qualità degli alimenti utilizzati (Hillerman et al., 1953).

Di fronte ai principali aspetti delle suddette tematiche e per rispondere ai frequenti quesiti che, in tema di alimentazione animale, la pratica ci pone abbiamo creduto opportuno portare un contributo allo studio delle potenzialità applicative dei probiotici nelle condizioni di allevamento tipiche dei nostri comprensori. Tenuto conto di queste considerazioni abbiamo espletato le indagini di cui al titolo della presente nota, volte a chiarire quali parametri ematochimici sono influenzati dall'azione del ceppo batterico impiegato e le performance prodotte da animali allevati nelle condizioni dell'allevamento industriale.

### *Materiali e metodi*

Per l'espletamento della prova sono stati utilizzati 450 tacchini maschi di un giorno di età, appartenenti al ceppo British United Turkeys (BUT), divisi in 5 gruppi di 90 soggetti cadauno, contrassegnati con le lettere A, B, C, D. Il ciclo di allevamento ha avuto una durata di 140 giorni ripartiti in 5 periodi di 28 giorni cadauno. Gli animali di ogni gruppo sono stati alimentati con mangimi completi di 1° periodo (dal 1° al 28° d), di 2° (dal 29° al 56° d), di 3° (dal 57° al 84° d), di 4° (dal 85° al 112° d) e di 5° periodo (dal 113° al 140° d) (tabelle n. 1 e 2). L'alimento è stato somministrato agli animali in forma sbriciolata fino al 28° d, vale a dire fino alla fine del primo periodo e sotto forma di pellets per i periodi successivi. Limitatamente ai mangimi destinati al 1° e al 2° periodo di allevamento è stata prevista l'aggiunta del Dimetridazolo contro la coccidiosi. Al gruppo A "controllo" sono stati somministrati i mangimi base come tali, mentre per agli altri gruppi "trattati" sono stati riservati gli stessi mangimi nei quali, in qualità di supplemento, è stato aggiunto il *Bacillus cereus var. Toyoi* CNCM 1-12/NCIB 40112 (TOYOCERINC) alla dose di 250 milioni di U.F.C. (gruppo B), di 500 milioni di U.F.C. (gruppo C), di 1 miliardo di U.F.C. per kg di mangime (gruppo D).

Nel corso della prova sono stati eseguiti i seguenti rilievi:

- valutazione quotidiana dello stato di salute;
- controllo del peso vivo individuale, del consumo di mangime per ciascun gruppo;
- prelievo randomizzato di campioni di sangue su 10 animali per gruppo, con una periodicità di 28 giorni, per la determinazione dei seguenti parametri ematochimici: proteine tot., albumina, globuline, A/G, glucosio, acido urico, Ca, Pi (fosfati), lipidi tot., trigliceridi, colesterolo tot., colesterolo-HDL,  $\alpha$ -lipoproteine,  $\beta$ -lipoproteine, P-lipidi. Le indagini biochimico cliniche sono state eseguite tramite l'impiego di kit del commercio (Roche, Milano).

Tabella n. 1: Mangimi completi sperimentali (di base).

Alimenti	Periodi	1°	2°	3°	4°	5°
Farina di mais	Kg	42,30	44,30	45,60	28,00	32,00
Farina di frumento	Kg	-----	-----	4,00	24,50	25,00
Farina estr. di soia (48% prot.)	Kg	32,00	30,00	26,00	24,00	23,50
Farina di soia integrale estrusa	Kg	15,00	15,00	12,00	10,00	5,00
Farina di aringhe	Kg	5,20	4,20	2,70	1,00	-----
Grassi anim. (sego+strutto 80/20)	Kg	1,00	1,50	4,20	7,00	9,00
Fosfato bicalcico	Kg	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50
Calcio carbonato	Kg	0,60	0,60	0,70	0,70	0,70
Bentonite	Kg	-----	0,50	1,00	1,00	1,00
Alimet 85	Kg	0,40	0,40	0,30	0,30	0,30
Lisina	Kg	0,20	0,20	0,15	0,15	0,15
Bicarbonato di sodio	Kg	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Cloruro di sodio	Kg	0,10	0,10	0,15	0,15	0,15
Complesso vitaminico e minerale (*)	Kg	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50

(\*) *Integrazione vitaminica e oligominerale per kg di mangime*: Vitamina A: U.I. 13.500; Vit. D3: 2.500; Vit. E: mg 60; Vit. B1: mg 4; Vit. B2: mg 10; Vit. B6: mg 6; Ac. Dpantotenico: mg 15; Vit. K: mg 3; Vit. PP: mg 50; Vit. B12: mg 0,02; Manganese (da ossido manganoso): mg 125; Zinco (da ossido di zinco): mg 90; Cobalto (da solfato di cobalto eptaidrato): mg 0,25; Ferro (da solfato ferroso eptaidrato): mg 40; Rame (da solfato rameico pentaidrato): mg 35; Iodio (da iodato di calcio anidro): mg 1; Selenio (da selenito di sodio): mg 0,20.

Limitatamente ai mangimi di 1° e di 2° periodo: Monensin sodio: mg 80; Dimetridazolo: mg 150.

Tabella n. 2: Analisi chimica dei mangimi completi sperimentali.

Periodi		1°	2°	3°	4°	5°
Umidità	%	12,05	11,58	12,24	12,15	11,53
Proteina greggia	%	28,14	26,71	23,13	21,20	18,75
Sostanze grasse gregge	%	6,54	6,56	8,58	10,49	11,61
Fibra grezza	%	3,56	3,54	3,29	3,08	2,86
Ceneri gregge	%	7,20	7,00	7,03	6,77	6,37
Lisina	%	1,84	1,74	1,44	1,26	1,12
Metionina	%	0,80	0,77	0,67	0,58	0,58
Met.+ Cistina	%	1,19	1,15	1,00	0,91	0,87
Calcio	%	1,09	1,06	1,05	1,02	0,97
Fosforo utilizzabile	%	0,65	0,63	0,60	0,57	0,55
Energia Metabolizzabile	kcal/kg	2950	3000	3150	3250	3350

## Risultati e discussione

A) *Lo stato di salute*: per tutta la durata della prova i regimi alimentari adottati non hanno subito variazioni o tali da influire sullo stato organico e sanitario degli animali. Il tasso di mortalità ha oscillato fra il 7 ed il 12%, rimanendo entro i limiti ritenuti nella norma per il ceppo di appartenenza dei tacchini;

B) *Il peso vivo medio*: allo scadere di ogni periodo di allevamento, gli effettivi di ciascun gruppo sono stati pesati individualmente. Nella tabella n. 3 sono raccolti i valori medi rinvenuti in occasione delle verifiche effettuate.

1) al 28° giorno di vita, fine del primo periodo di allevamento, i tacchini appartenenti al gruppo A (controllo) hanno fatto registrare una velocità di crescita che si equivale a quella dei soggetti del gruppo B, alimentati con mangimi addizionati con il TOYO-CERIN in ragione di 250 milioni U.F.C./kg di mangime, mentre si sono avvantaggiati, in misura statisticamente significativa ( $P < 0,05$ ), nei confronti di quelli trattati con il probiotico alla dose di 500 milioni (gruppo C) (+5,62%) e di 1 miliardo di U.F.C./kg di mangime (gruppo D) (+10,08%).

2) a partire dal 29° fino al 112° giorno di età gli animali di controllo (gruppo A) e quelli di esperimento trattati con il *Bacillus toyoi* (gruppi B, C, D) hanno evidenziato velocità di crescita molto simili tra loro e tali da far registrare, a conclusione del 4° periodo di allevamento, pesi vivi medi pressoché, sovrapponibili ( $P = n.s.$ );

3) alla fine della prova (140° d) il *Bacillus toyoi*, alla dose di 500 milioni U.F.C./kg di mangime (gruppo C), ha fatto annotare accrescimenti ponderali superiori rispetto ai controlli (gruppo A) in virtù di differenze statisticamente significative ( $P < 0,05$ ), pari al 5,41%. Anche al dosaggio più basso (gruppo B) e a quello più alto (gruppo D) il probiotico sembra migliorare, rispetto ai controlli, il tasso di crescita (+ 1,65% e + 1,16% rispettivamente) senza però che le variazioni raggiungano la significatività statistica ( $P = n.s.$ ).

C) *Il consumo di alimenti*: nella tabella n. 3 figurano anche i valori relativi ai consumi medi di mangime resisi necessari per la produzione di 1 kg di peso vivo e calcolati per ciascun periodo di esperimento. Dall'esame della tabella appare evidente che i tacchini trattati con il probiotico (gruppi B, C, D) hanno denunciato un consumo di alimento inferiore, rispetto a quello dei Controlli (gruppo A), con differenze pari a - 1,65%, -1,57% e 2,13%. Tali differenze, pur non essendo di entità rilevante, possono essere imputate alla favorevole azione esplicata dal *Bacillus toyoi* in ambito intestinale, come già osservato in una prova sperimentale del tutto simile condotta nei broiler (Quarantelli 1998).

D) *I parametri ematici*: i risultati ottenuti a seguito dei rilievi effettuati sui campioni prelevati al 28°, al 56°, al 84°, al 112° e al 142° giorno di età sono riportati nelle tabelle n. 4 e 5.

Le indagini statistiche sui risultati sperimentali hanno evidenziato quanto segue:

- i parametri dello stato proteico presentano variazioni statisticamente significative ( $P < 0,05$ ) specificamente per le proteine tot., l'albumina, le globulina ed il rapporto A/G. Le concentrazioni plasmatiche delle proteine tot. e le globuline aumentano nei gruppi C e D in corrispondenza dei prelievi 2°, 3° e 4° ( $P < 0,01$ ), rispetto agli animali controllo. Diversamente, le concentrazioni plasmatiche di albumina ed il rapporto A/G diminuiscono significativamente nei gruppi B e C, mentre per il gruppo D le

Tabella n. 3 - Parametri produttivi (valori medi  $\pm$  D.S.).

GRUPPI		A (Controllo)	B (C+250 T.)	C (C+500 T.)	D (C+1000 T.)
1° periodo					
Soggetti	n.	90	90	90	90
P.V.M. a 28 d	g	1380,00b $\pm$ 145	1345,25a $\pm$ 173	1302,44a $\pm$ 127	1240,89a $\pm$ 162
Ind. Conv. 1-28 d	kg	1,567	1,526	1,518	1,563
2° periodo					
P.V.M. a 56 d.	g	5015,47 $\pm$ 537	5053,51 $\pm$ 671	4960,83 $\pm$ 494	4897,12 $\pm$ 627
Ind. Conv. 1-56 d	kg	1,786	1,757	1,746	1,733
3° periodo					
P.V.M. a 84 d.	g	8970,74 $\pm$ 1203	9055,06 $\pm$ 1343	9105,52 $\pm$ 1689	9094,37 $\pm$ 1226
Ind. Conv. 1-84 d	kg	2,030	2,025	1,988	1,888
4° periodo					
P.V.M. a 112 d.	g	14043,24 $\pm$ 1901	14598,25 $\pm$ 1834	14951,63 $\pm$ 1905	14245,08 $\pm$ 1865
Ind. Conv. 1-112 d	kg	2,327	2,317	2,301	2,289
5° periodo					
P.V.M. a 142 d	g	19007,86a $\pm$ 2015	19763,43a $\pm$ 1845	20095,02b $\pm$ 2008	19861,90a $\pm$ 1873
Ind. Conv. 1-142 d	kg	2,563	2,520	2,522	2,508
Mortalità 1-142 d	%	10,34	9,19	7,22	10,25

- a, b diversi per  $P < 0,05$ .

diminuzioni osservate non assumono un livello di significatività statistica apprezzabile ( $P < 0,05$ ). L'andamento del parametro A/G, che rappresenta il rapporto tra le concentrazioni di albumina e delle globuline, indica che la diminuzione dei livelli plasmatici di albumina è predominante sugli aumenti registrati nei livelli di globuline. La diminuzione predominante della concentrazioni di albumina è riconducibile all'elevata richiesta di aminoacidi da impiegarsi nell'anabolismo proteico muscolare, tipico di animali in accrescimento, la cui genetica è particolarmente idonea a raggiungere le performance tipiche del bovino da carne (Ubaldi e coll., 1982).

- una diminuzione statisticamente significativa ( $P < 0,05$ ) è stata evidenziata nei valori del rapporto Ca/Pi, causata da una diminuzione delle concentrazioni plasmatiche del fosforo inorganico Pi (fosfati), che però è risultata ponderalmente limitata rispetto al rapporto citato e proporzionale alla quantità di probiotico addizionato all'alimento base.

- di sicuro interesse sono le osservazioni eseguite per i parametri dello stato lipidico. Gli aumenti significativi registrati per i parametri lipidi tot. e trigliceridi in corrispondenza del periodo finale della prova sono accompagnati da una invariabilità del parametro fosfo-lipidi (P-lipidi). Quest'ultimo parametro è strettamente legato alle funzioni di assorbimento intestinale delle frazioni lipidiche e, sostanzialmente, alla

Tabella n. 4: Valori medi e di deviazione standard di parametri plasmatici di gruppi di tacchini trattati con *Bacillus cereus* var. *Toyo* e di controllo.

		Unità misura	Gruppo A (controllo)	Gruppo B (c+250 T.)	Gruppo C (c+500 T.)	Gruppo D (c+1000 T.)
1° periodo	Prot. Tot	g/dl	3,60 ± 0,17	3,40 ± 0,04	3,43 ± 0,32	3,50 ± 0,10
	Albumina	g/dl	2,17 ± 0,06	2,03 ± 0,11	2,00 ± 0,10	2,17 ± 0,06
	Globuline	g/dl	1,43 ± 0,15	1,37 ± 0,11	1,43 ± 0,23	1,33 ± 0,06
	A/G		1,53 ± 0,15	1,50 ± 0,17	1,40 ± 0,17	1,63 ± 0,06
	Glucosio	mg/dl	291 ± 10,82	282 ± 7,64	295 ± 7,23	298 ± 8,71
	Ac. Urico	mg/dl	4,90 ± 1,34	4,93 ± 1,52	4,77 ± 1,17	4,67 ± 0,47
	Ca	mg/dl	13,9 ± 0,10	13,5 ± 0,26	13,2 ± 0,55	14,0 ± 0,06
	Pi	mg/dl	10,7 ± 0,06	10,7 ± 0,06	8,2 ± 0,72	10,4 ± 0,20
2° periodo	Prot. Tot	g/dl	3,80 ± 0,23	3,97 ± 0,61	4,63 ± 0,41	4,10 ± 0,36
	Albumina	g/dl	2,07 ± 0,06	1,87 ± 0,11	1,93 ± 0,15	2,07 ± 0,15
	Globuline	g/dl	1,77 ± 0,21	2,10 ± 0,60	2,70 ± 0,52	2,03 ± 0,32
	A/G		1,20 ± 0,10	0,97 ± 0,25	0,73 ± 0,21	1,03 ± 0,15
	Glucosio	mg/dl	298 ± 21,70	296 ± 6,66	270 ± 54,90	282 ± 17,21
	Ac. Urico	mg/dl	5,17 ± 0,71	4,03 ± 0,81	5,01 ± 0,47	5,70 ± 1,01
	Ca	mg/dl	12,9 ± 1,51	13,3 ± 0,44	13,6 ± 0,35	14,3 ± 0,21
	Pi	mg/dl	10,5 ± 0,32	10,6 ± 0,06	10,6 ± 0,20	10,4 ± 0,47
3° periodo	Prot. Tot	g/dl	4,10 ± 0,36	3,80 ± 0,92	4,43 ± 0,21	4,10 ± 0,36
	Albumina	g/dl	2,03 ± 0,11	1,90 ± 0,30	1,83 ± 0,11	1,90 ± 0,44
	Globuline	g/dl	2,07 ± 0,47	1,90 ± 0,75	2,60 ± 0,30	2,20 ± 0,66
	A/G		1,00 ± 0,26	1,13 ± 0,49	0,70 ± 0,03	0,90 ± 0,52
	Glucosio	mg/dl	302 ± 22,37	289 ± 9,02	284 ± 15,72	295 ± 5,13
	Ac. Urico	mg/dl	4,37 ± 0,50	4,50 ± 1,21	4,70 ± 0,66	4,07 ± 0,71
	Ca	mg/dl	14,5 ± 0,11	14,5 ± 1,11	14,6 ± 0,06	14,6 ± 0,06
	Pi	mg/dl	10,6 ± 0,06	9,7 ± 0,90	9,9 ± 0,53	9,90 ± 1,21
4° periodo	Prot. Tot	g/dl	3,60 ± 0,35	3,67 ± 0,58	4,60 ± 0,56	4,97 ± 0,35
	Albumina	g/dl	1,80 ± 0,10	1,73 ± 0,29	1,74 ± 0,28	1,87 ± 0,06
	Globuline	g/dl	1,80 ± 0,26	1,93 ± 0,76	2,86 ± 0,37	3,10 ± 0,36
	A/G		1,00 ± 0,10	1,03 ± 0,61	0,63 ± 0,05	0,63 ± 0,06
	Glucosio	mg/dl	295 ± 22,13	303 ± 10,39	284 ± 17,76	296 ± 12,01
	Ac. Urico	mg/dl	3,33 ± 0,02	4,40 ± 0,44	4,70 ± 0,63	3,63 ± 0,25
	Ca	mg/dl	14,6 ± 0,04	14,5 ± 0,11	14,6 ± 1,32	14,4 ± 0,29
	Pi	mg/dl	10,4 ± 0,32	9,4 ± 0,49	10,2 ± 1,13	10,0 ± 0,53

Tabella n. 5: valori medi e di deviazione standard di parametri plasmatici dello stato lipidico di gruppi di tacchini trattati con *Bacillus cereus* var. *Toyoi* e di controllo.

1° periodo		Unità misura	Gruppo A (controllo)	Gruppo B (c+250 T.)	Gruppo C (c+500 T.)	Gruppo D (c+1000 T.)
	Lipidi Tot.	mg/dl	579 ± 40,73	566 ± 11,53	602 ± 42,48	580 ± 15,10
	Trigliceridi	mg/dl	151 ± 21,36	100 ± 29,40	158 ± 75,50	123 ± 2,89
	Colest. Tot.	mg/dl	160 ± 41,63	174 ± 7,23	174 ± 13,01	181 ± 4,73
	Col-HDL	mg/dl	115 ± 9,07	97 ± 25,32	115 ± 7,50	124 ± 19,50
	α-lipoprot.	mg/dl	72,3 ± 6,20	56,1 ± 14,90	66,9 ± 9,10	68,3 ± 8,92
	β-lipoprot.	mg/dl	27,7 ± 6,20	43,9 ± 14,90	33,1 ± 9,10	21,7 ± 13,95
	α/β		2,61 ± 0,34	1,28 ± 0,33	2,02 ± 0,41	3,15 ± 0,47
	P-lipidi	mg/dl	257 ± 15,82	258 ± 10,1555	262 ± 26,06	274 ± 4,16
2° periodo	Lipidi Tot.	mg/dl	444 ± 35,38	580 ± 20,42	586 ± 65,77	546 ± 110,85
	Trigliceridi	mg/dl	99 ± 24,19	94 ± 38,40	158 ± 70,20	61 ± 9,29
	Colest. Tot.	mg/dl	115 ± 3,64	128 ± 15,63	139 ± 13,05	141 ± 16,16
	Col-HDL	mg/dl	87 ± 16,09	71 ± 5,00	89 ± 2,89	91 ± 7,23
	α-lipoprot.	mg/dl	75,5 ± 12,25	56,5 ± 11,12	64,9 ± 7,41	65,2 ± 10,04
	β-lipoprot.	mg/dl	24,5 ± 12,25	43,5 ± 11,12	35,1 ± 7,41	34,8 ± 10,04
	α/β		3,08 ± 0,32	1,30 ± 0,35	1,85 ± 0,09	1,87 ± 0,22
	P-lipidi	mg/dl	170 ± 21,08	195 ± 34,30	199 ± 35,91	173 ± 10,60
3° periodo	Lipidi Tot.	mg/dl	427 ± 61,99	333 ± 75,44	494 ± 75,96	473 ± 127,75
	Trigliceridi	mg/dl	54 ± 20,30	36 ± 2,65	48 ± 4,93	68 ± 36,76
	Colest. Tot.	mg/dl	121 ± 25,94	112 ± 16,29	129 ± 14,64	125 ± 37,23
	Col-HDL	mg/dl	66 ± 7,77	88 ± 13,31	71 ± 15,31	92 ± 8,33
	α-lipoprot.	mg/dl	57,7 ± 20,62	79,1 ± 11,55	56,8 ± 19,08	77,6 ± 21,12
	β-lipoprot.	mg/dl	42,3 ± 20,62	20,9 ± 11,55	43,2 ± 19,08	22,4 ± 21,12
	α/β		0,69 ± 0,01	3,78 ± 0,44	1,31 ± 0,28	3,46 ± 0,30
	P-lipidi	mg/dl	140 ± 30,66	107 ± 19,60	139 ± 31,19	161 ± 95,67
4° periodo	Lipidi Tot.	mg/dl	527 ± 49	625 ± 144,83	424 ± 89,65	673 ± 46,60
	Trigliceridi	mg/dl	52 ± 4,04	117 ± 36,43	103 ± 23,54	128 ± 11,37
	Colest. Tot.	mg/dl	141 ± 14,00	150 ± 21,55	114 ± 19,83	183 ± 14,73
	Col-HDL	mg/dl	84 ± 28,79	98 ± 6,66	91 ± 7,59	99 ± 10,12
	α-lipoprot.	mg/dl	59,0 ± 17,63	66,2 ± 9,39	79,8 ± 8,21	54,2 ± 1,21
	β-lipoprot.	mg/dl	41,0 ± 17,63	33,8 ± 9,39	20,2 ± 5,69	45,8 ± 1,21
	α/β		1,43 ± 0,21	1,96 ± 0,26	3,95 ± 0,44	1,18 ± 0,20
	P-lipidi	mg/dl	207 ± 7,00	203 ± 74,48	201 ± 23,76	181 ± 21,36

quantità di lipidi assorbiti. La costanza dei valori del parametro, pertanto, indica che la presenza intestinale del *Bacillus cereus* non influenza il parametro, ma l'aumentato anabolismo proteico impone una mobilitazione lipidica tale da incidere positivamente sulla sintesi epatica di trigliceridi. In pratica, si assiste ad una redistribuzione dei gliceridi, sotto forma di acidi grassi liberi e glicerolo, dal tessuto di deposito all'ambiente epatico e successivamente a quello ematico (Viviani, 1984).

- relativamente ai parametri connessi con il metabolismo del colesterolo, si può osservare che la frazione colesterolo-HDL presenta degli aumenti significativi ( $P < 0,05$ ) per tutti gruppi di animali trattati, in corrispondenza dei prelievi 3° e 4°. La relazione tra i livelli e le capacità "drenanti" dell'organismo nei confronti del contenuto di colesterolo dei muscoli fa supporre che l'aggiunta del probiotico ad un alimento di base sia in grado di influenzare le caratteristiche bromatologiche del muscolo del tacchino, nel senso dell'abbassamento del contenuto di colesterolo.

- le osservazioni compiute sui contenuti plasmatici di col-HDL vanno di pari passo con quelle sui livelli plasmatici di  $\alpha$  e  $\beta$  lipoproteine, per le quali l'aumento significativo ( $P < 0,01$ ) della frazione  $\alpha$  indica l'effetto positivo dell'impiego del probiotico in studio.

### Conclusioni

Sulla scorta dei reperti registrati, ci sembra di poter affermare che il *Bacillus cereus var. Toyoi*, in corrispondenza di una dose di impiego pari a 500 milioni di U.F.C./kg di mangime, si dimostra capace di svolgere, soprattutto nella seconda fase del ciclo di allevamento, attività di promotore di crescita migliorando il peso vivo medio (+5,62%) e riducendo, anche se in misura contenuta, il consumo di alimento (-1,57%).

Lo studio dei parametri plasmatici di tipo biochimico clinico ha dimostrato gli effetti positivi della prova con il probiotico sull'anabolismo proteico nel senso di un incremento, che accompagna le osservazioni sull'accrescimento ponderale dei soggetti trattati sopra riportate. Inoltre, gli effetti positivi sono stati rilevati anche sulla lipomobilitazione periferica e l'incremento delle frazioni lipoproteiche e del colesterolo, che depongono per un più efficace drenaggio del colesterolo dal comparto muscolare, con un possibile miglioramento delle qualità nutrizionali della carne di tacchino, ottenute da animali sottoposti a regimi alimentari che prevedano l'uso di *Bacillus cereus var. Toyoi*. Quest'ultima supposizione impone agli Autori uno studio successivo volto a confermarla ed a tradurre l'esperienza speculativa in un dettato scientifico e tecnologico a vantaggio del comparto avicolo nazionale.

**Parole chiave:** tacchino, probiotici, *Bacillus cereus var. Toyoi*, parametri ematochimici, performance

**Key words:** Turkey poult, probiotic, *Bacillus cereus var. Toyoi*, clinical biochemical parameters, performances

**RIASSUNTO** - Allo scopo di approfondire le conoscenze sugli effetti dell'aggiunta di probiotici, in particolare *Bacillus cereus var. Toyoi* è stato condotto uno studio sperimentale, della durata di centoquaranta giorni, in tacchini. Il probiotico è stato aggiunto alle dosi di 250, 500 milioni ed 1 miliardo di CFU/Kg di alimento.

Alla dose di 500 milioni di CFU/Kg di alimento l'uso del *Bacillus Toyoi* ha migliorato in misura significativa ( $P<0,05$ ) l'incremento ponderale degli animali trattati (+ 5,41%). D'altro canto, la stessa concentrazione di probiotico ha ridotto l'assunzione di alimento in misura diversa nei vari gruppi (-1.65%, - 1.57% e -2.13%, risp), mentre non ha influenzato la quota di mortalità durante tutto il periodo di trattamento.

Le indagini di carattere biochimico clinico hanno evidenziato un aumento dell'anabolismo muscolare attraverso una diminuzione dei livelli plasmatici di albumina nei gruppi di soggetti trattati. Evenienza già comprovata in altre specie animali da carne.

L'utilizzo del *B. Toyoi* ha provocato lipomobilizzazione con significativo aumento ( $P<0,01$ ) della concentrazione plasmatica dei trigliceridi. Inoltre, è stata osservata una favorevole correlazione tra il contenuto di colesterolo-HDL ed i livelli plasmatici di fosfo-lipidi. Ciò suggerisce una possibile diminuzione del contenuto di colesterolo a livello muscolare. Questa ultima ipotesi richiede necessariamente un'adeguata conferma sperimentale.

**SUMMARY** - To study the effects of adding *Bacillus Toyoi* on turkey performances an experiment of 140 days duration was conducted. The probiotic was added at the doses of 250, 500 million and 1 milliard CFU/kg to a commercial feed. The *Bacillus cereus* var. *Toyoi* at the dose of 500 million CFU/kg of feed improved ( $P<0.05$ ) the weight gain (+5.41%). The probiotic slight reduces the feed intake in the various animal groups (-1.65%, - 1.57%, -2.13% e -1.61% reps). The mortality rate was not modified by treatments.

The biochemical parameters showed an increase of muscular anabolism throughout a decrease of plasma albumin levels in treated subjects. The employ of *Bacillus Toyoi* causes a moderate lipid mobilisation producing a significant increase in plasma tryglicerides concentrations. Moreover, a favourable correlation between the chol-HDL and P-lipids levels was observed. This suggests a possible decrease of a muscular cholesterol content. The last hypothesis needs a future explanation.

### *Bibliografia*

Fuller R. (1989) - Probiotic in man and animals. Journal of Applied bacteriology, 66, 365-378.

Gunther K.D. (1994) - The role of probiotics as feed additives in animal nutrition. Proc. 3dr Int. Feed Prod. Conf. G. Piava Ed. Piacenza (I) , 97-115, 22-23 February 1994.

Hillerman J.P., Kratzer F.H. and Wilbor O. Wilson (1953) - Food passage through chickens and turkey and some regulating factors. Poultry Sci., 32, 332-335.

Inbarr J. (1996) - Production without antibiotics: the swedish experience. Feed International, 17, (4), 8-12.

Isshiki Y. (1979) - Effects of lactobacilli in the diet on the concentration of nitrogenous compounds and mineral in blood of chickens. Japanese Poultry Science, 16, 254-258.

- Jin L.Z., Ho Y.W., Abdullah N. and Jalaludin S. (1996) – Effects of *Lactobacillus* cultures on the digestive enzymes in chicken intestine. Proceeding of the 8<sup>th</sup> Animal Science Congress of the Asia-Australian Association of Animal Production Societies, Tokyo/Chiba, Japan pp. 224-225.
- Jin L.Z., Ho Y.W., Abdullah N. and Jalaludin S. (1997) – probiotic in poultry: modes of action. *World's Poultry Science Journal*, 53, 351-368.
- Mitchell I.G. and Kenworthy R. (1976) – Investigation on a metabolite from *Lactobacillus bulgaricus* which neutralizes the effect of enterotoxin from *Escherichia coli* pathogenic for pigs. *Journal of Applied Bacteriology*, 41, 163-174.
- Perdigon G., Alvarez S., Rachid M., Agüero G. and Gobatto N. (1995) – Immune system stimulation by probiotics. *Journal of Dairy Science*, 78, 1597-1606.
- Pollmann D.S., Danielson D.M. and Peo E.R. (1980) – Effects of microbial feed additives on performance of starter and growing-finishing pigs. *Journal of Animal Science*, 51, 577-581.
- Quarantelli A. (1998) - L'impiego del *Bacillus Toyoi* nell'alimentazione del pollo da carne. *Atti SISVet*, Vol. 52, 499-500. Silvi Marina (TE) 17-19 settembre.
- Sisson J.W. (1989) – Potential of probiotic organisms to prevent diarrhea and promote digestion in farm animals: a review. *Journal of Food and Agriculture Science*, 49, 1-3.
- Ubaldi A., Corbella E., Montanari P. (1982) - *Diagnostica chimico clinica veterinaria*. Ed. Ambrosiana, Milano
- Viviani R., (1984) - *Elementi di Biochimica*. Ed. UTET, Torino.

## CINQUE ANNI DI ZOOTECCIA BIOLOGICA A CONFRONTO<sup>1</sup>

A. Salghetti, G. Bonazzi<sup>2</sup>

### *1. Introduzione*

I prodotti alimentari biologici di origine animale hanno una storia più recente rispetto a quelli di origine vegetale. Il motivo di questo ritardo è riconducibile alla complessità e alla maggiore durata del ciclo per i processi produttivi zootecnici.

In realtà il mancato decollo della zootecnia biologica trova una ulteriore motivazione nell'incertezza del quadro normativo. Infatti, la regolamentazione della zootecnia biologica è in ritardo di un decennio su quella delle produzioni vegetali biologiche.

Ciò nonostante il ritmo alla conversione degli allevamenti si è recentemente accelerato sotto la spinta della domanda dei consumatori, alla ricerca di prodotti di qualità e con maggiori garanzie dal punto di vista igienico-sanitario, dopo le note vicende della Bse, per citare il caso più recente.

Anche la Gdo sembra credere nel futuro delle produzioni biologiche, scendendo nell'arena del mercato e dando visibilità ai prodotti alimentari Bio. Gli allevatori sono ora chiamati a corrispondere, con le loro produzioni, alla crescente richiesta del mercato, se non vogliono essere scavalcati dai prodotti d'importazione.

La zootecnia biologica è attiva da oltre un decennio, sia pure con un numero limitato di allevatori, che possiamo considerare dei veri pionieri. Più lunga è la storia degli allevamenti biodinamici, che sappiamo essere intimamente legati con le produzioni vegetali.

La conversione dell'allevamento al metodo biologico di produzione richiede una attenta valutazione dei rischi tecnici ed economici per individuare le prospettive future che l'operazione comporta.

L'indagine non può limitarsi alle valutazioni teoriche ma deve prendere in esame le realtà operative sul territorio, i risultati da queste conseguiti, la dinamica evolutiva ecc. In termini concreti si tratta di valutare la convenienza economica alla conversione dal metodo di produzione convenzionale a quello biologico.

E' un'analisi complessa e laboriosa perché attiene a cicli produttivi superiori all'anno, con nuovi investimenti per adeguare l'allevamento alle normative Bio, a

---

<sup>1</sup> Lavoro eseguito con finanziamento FIL (ex quota 60%). Lo studio è frutto di un lavoro comune dei due autori. Tuttavia in sede di stesura del testo Andrea Salghetti ha redatto i paragrafi 1, 2, 3, 9; mentre Giuseppe Bonazzi ha redatto i paragrafi 4, 5, 6, 7, 8.

<sup>2</sup> Istituto di Economia Rurale e Zootecnia, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Parma.

fronte di informazioni alquanto carenti sulle caratteristiche strutturali e sui risultati economici già conseguiti da allevatori biologici in attività.

Il nostro Istituto si occupa da diversi anni delle ricerche sulla zootecnia biologica, in particolare per la specie bovina. Infatti, nel 1995 è stata condotta una ricerca, nell'ambito del progetto finalizzato RAISA del CNR, su un vasto campione di allevamenti biologici dell'Italia Settentrionale, pressoché coincidenti con l'universo di allora.

In quella occasione ci siamo resi conto della necessità di non limitare l'indagine ad una sola annata agraria, perché i risultati possono essere inficiati da congiunture più o meno favorevoli, che possono andare a favore del metodo biologico oppure di quello convenzionale.

Di qui la scelta di continuare le ricerche, sia pure con un numero più ridotto di allevamenti biologici, limitando l'indagine a quelli specializzati nella produzione di latte. Si tratta di cinque anni consecutivi di rilevazioni con le medesime unità produttive, alle quali è stato affiancato un numero analogo di allevamenti convenzionali per lo stesso periodo.

Nel seguito dell'esposizione andremo ad indagare l'evolversi degli allevamenti e ad approfondire i termini del confronto, con l'auspicio che le ricerche svolte possano raggiungere l'obiettivo di fornire un'utile fonte di informazione per i ricercatori e un supporto operativo per gli stessi allevatori che volessero valutare la convenienza economica alla conversione dell'allevamento dal metodo di produzione convenzionale a quello biologico.

Per quanto riguarda la metodologia della ricerca e quella di raccolta ed elaborazione dei dati si rimanda il lettore al nostro precedente lavoro: "Produzioni biologiche e convenzionali negli allevamenti bovini" (15).

## *2. Evoluzione del comparto*

La raccolta delle informazioni sulla consistenza del numero delle imprese che producono con metodo biologico ha subito nel corso degli ultimi anni un continuo affinamento, in coerenza con l'espansione del fenomeno.

Infatti negli anni Novanta, non esistendo delle normative specifiche, i dati di consistenza venivano raccolti dai rispettivi Organismi di rappresentanza, che non potevano trovare riscontro nelle fonti statistiche ufficiali.

In realtà nel 1987 la Comunità Europea si era occupata di agricoltura biologica con una specifica indagine sulle aziende attive in Europa. L'Italia era rappresentata da 800 unità produttive con 9.000 ettari di superficie.

Con l'introduzione del Reg. Ce n. 2092/91 viene costituito il registro delle imprese biologiche presso l'allora Miraaf dando ufficialità alle statistiche sul comparto delle produzioni biologiche. Nel 1993 risultavano iscritte 4.092 aziende con una superficie complessiva di 91.639 ettari (11).

Venendo ai giorni nostri il quadro è notevolmente cambiato e l'Italia è ai primi posti in Europa nella diffusione dell'agrobiologia. Secondo i dati raccolti da Biobank nel 2000 erano presenti in Italia 47.357 aziende agricole biologiche con 1.069.339 ettari di superficie, più del 6% della superficie agricola nazionale (3). Rispetto al 1993 sia le aziende che le superfici sottese si sono più che decuplicate. Alle aziende

agricole vanno aggiunte le aziende di trasformazione (2.898) e quelle miste di produzione e trasformazione (1.297). A completare le informazioni statistiche sul fenomeno sono in arrivo le pubblicazioni del Censimento Generale dell'Agricoltura condotto nel 1990.

Per quanto riguarda gli allevamenti biologici i dati sono abbastanza recenti e ci vengono sempre forniti dalle rilevazioni di BioBank. Nel 2000 è stata rilevata la presenza di 1.423 aziende zootecniche biologiche in Italia, con una crescita del 33% rispetto al 1999. E' una consistenza decisamente inferiore rispetto alle aziende con indirizzo vegetale. Infatti l'incidenza delle aziende zootecniche biologiche sul totale è all'incirca dell'3%.

La situazione si poteva ritenere scontata visto il ritardo nell'introduzione della normativa sulla zootecnia biologica, senza contare la maggiore complessità del processo di conversione e la maggiore durata del ciclo produttivo per le produzioni animali. Basti ricordare che per ottenere del formaggio grana biologico ci vogliono all'incirca 5 anni, tenuto conto dei tempi di conversione delle colture foraggere, dell'allevamento e delle successive fasi di produzione e trasformazione del latte e di stagionatura del formaggio.

La conversione dal metodo convenzionale a quello biologico di produrre non comporta necessariamente la conversione di tutta l'azienda, infatti l'allevamento può essere escluso. Questo era frequente nella fase pionieristica, anche se dobbiamo ricordare che i produttori biodinamici erano vincolati sin dall'inizio alla conversione dell'allevamento per completare il ciclo naturale della vita.

### *3. Il quadro giuridico*

Le normative sull'agricoltura eco-compatibile prendono corpo nell'ambito delle politiche ambientali della Ce. Si arriva ad una normativa specifica sull'agricoltura biologica con l'emanazione del Reg. Ce n. 2092/91, nel quale vengono definite le norme di produzione e quelle del sistema di controllo.

Il regolamento fa riferimento alle produzioni biologiche di origine vegetale, mentre rinvia ad un successivo regolamento la normativa sulle produzioni biologiche di origine animale. Queste vedono la luce solo dopo otto anni, con l'emanazione del Reg. Ce n. 1804/99 che completa, per le produzioni animali, il primo regolamento.

Nel frattempo sono valse le normative già approvate a livello internazionale (IFOAM) e predisposte dagli Organismi di controllo e di certificazione nazionale già riconosciuti o dalle rispettive Associazioni.

Ai regolamenti fondamentali seguono ulteriori regolamenti con modifiche ed integrazione e il recepimento a livello nazionale delle normative Ce con il Decreto del Maf 25 maggio 1992, n. 338, per quanto riguarda le produzioni vegetali biologiche, e il Decreto ministeriale n. 91436 del Mipaf del 4 agosto 2000 per quanto riguarda la zootecnia biologica.

Per la certificazione delle produzioni biologiche sono stati riconosciuti a tutt'oggi nove Organismi in Italia, ai quali si aggiungono altri due Organismi di controllo per la sola provincia Autonoma di Bolzano.

La scelta dell'Italia, sulla base del Decreto Legislativo n. 220/95 del 17 marzo 1995, è stata quella di delegare ad Organismi privati il compito della certificazione

delle produzioni biologiche, sotto la vigilanza, il controllo e il coordinamento del Miraaf.

Si tratta a tutt'oggi dei seguenti nove Organismi di Controllo: AIAB, ECOCERT ITALIA, BIOAGRICOOOP, IMC, BIOS srl, QC e I, CCPB, SUOLO E SALUTE srl, CODEX e per la Provincia di Bolzano BIOZERT srl e IMO.

Da segnalare l'adozione del marchio comunitario che la Commissione europea ha introdotto il 22 dicembre 1999, che potrà essere aggiunto ad altri marchi per i prodotti biologici aventi il requisito di contenere almeno il 95% di ingredienti biologici certificati.

La diffusione delle aziende dedite alle produzioni biologiche è stata accelerata dal sostegno finanziario pubblico previsto dal Reg. Ce n. 2078/92, relativo ai metodi di produzione agricola compatibili con le esigenze di protezione dell'ambiente e con la cura dello spazio naturale. Il regime di aiuti interessa le attività a minore impatto ambientale, tra le quali riveste un ruolo preminente proprio l'agricoltura biologica.

Tornando al regolamento sull'agrobiologia nel comparto zootecnico merita ricordare che la normativa si articola in otto punti:

- principi generali;
- conversione;
- origine degli animali;
- alimentazione;
- profilassi e cure veterinarie;
- metodi di gestione zootecnica, trasporto e identificazione dei prodotti animali;
- deiezioni zootecniche;
- aree di pascolo ed edifici zootecnici.

Il regolamento si occupa degli animali e dei prodotti animali delle specie: bovini (comprese le specie Bubalus e Bison), suini, ovini, caprini, equini e pollame. A questi si aggiunge una specifica per l'apicoltura e i prodotti dell'apicoltura.

Il completamento della normativa porta certezza ai produttori e assicura la continuità nella filiera produttiva dei prodotti biologici sino al consumo. Porta elementi di certezza anche per il consumatore con le norme sulla tracciabilità e rintracciabilità dell'alimento biologico di origine animale.

#### *4. Caratteristiche del campione*

Il campione di aziende prese in esame è stato estratto da quelle tenute sotto controllo contabile nel 1995 per la ricerca CNR-RAISA citata, restringendo le rilevazioni alle unità dedite alla sola produzione di latte, con specifico riferimento territoriale all'Emilia-Romagna, con una sola azienda in Lombardia.

Si tratta di 9 aziende biologiche e 12 aziende convenzionali, sempre le stesse, tenute costantemente sotto controllo contabile dal 1995 al 1999. Le aziende convenzionali sono tutte dedite alla produzione di latte per la trasformazione in formaggio Parmigiano-Reggiano, in analogia con quanto avviene in quelle biologiche, eccetto due unità che producono latte alimentare, in tutte le altre il latte viene trasformato presso i caseifici sociali. Questo conferisce alla ricerca un ulteriore elemento di comparabilità.

A loro volta le aziende sono state disaggregate per zona altimetrica per cogliere

alcuni aspetti differenziali legati alla collocazione orografica: pianura e bassa collina da una parte, alta collina e montagna dall'altra parte.

Il primo carattere differenziale tra aziende biologiche e convenzionali è la dimensione aziendale, con una media di 66 ettari SAU nelle prime e 46 nelle seconde; ciò significa che le aziende biologiche hanno una superficie coltivabile superiore del 45% rispetto alle convenzionali, con particolare accentuazione per quelle di montagna, dove ci si avvicina al 56% in più nel 1995.

Nel corso di un quinquennio le differenze si sono ulteriormente accentuate, perché nel 1999 le aziende biologiche sono arrivate a 93 ettari SAU, con una crescita del 41%, mentre le convenzionali sono rimaste pressoché invariate nella superficie media. Alla fine le aziende biologiche hanno raggiunto esattamente una dimensione doppia rispetto alle convenzionali, in un crescendo continuo per tutto il periodo.

Si confermano le peculiarità delle aziende biologiche, già messe in evidenza in altre ricerche, nelle quali la dimensione media aziendale è decisamente superiore alla media del territorio. Il processo di ampliamento continua ancora, alla ricerca dei benefici economici legati alle economie di scala, mentre le aziende convenzionali sembrano rimanere più statiche.

L'agrobiologia ha portato una ventata di dinamismo nelle aziende e una fiducia nelle prospettive future, come avremo modo di verificare nelle successive trattazioni.

La dimensione aziendale può essere rappresentata anche dall'ampiezza della mandria, che meglio definisce le capacità produttive, trattandosi di aziende specializzate nella produzione di latte.

In questo caso le differenze fra i due gruppi sono meno accentuate con la presenza media di 91 capi grossi negli allevamenti biologici e 83 in quelli convenzionali nel 1995, circa il 10% di differenza. Questo mette subito in evidenza un modo diverso di produzione: più estensivo negli allevamenti biologici (1,7 capi grossi bovini per ettaro foraggero), più intensivo negli allevamenti convenzionali (2,3 capi grossi bovini per ettaro foraggero), a conferma delle strategie diverse portate avanti dagli imprenditori.

Tali strategie si mantengono invariate nel periodo, con analogo carico di bestiame per unità di superficie foraggera. Cambia invece, e di molto, la dimensione media delle mandrie che passa a 132 capi grossi bovini (+46%) nel 1999 nelle aziende biologiche, grazie anche all'ampliamento della superficie aziendale, e a 90 capi grossi bovini (+8%) nelle aziende convenzionali. Infatti nel 1999 la dimensione media delle mandrie nelle aziende biologiche è superiore del 47% su quelle convenzionali, in linea con quanto abbiamo messo in evidenza per la superficie.

Naturalmente nelle zone di montagna il carico di bestiame per ettaro foraggero si mantiene inferiore a quello della pianura in entrambe le tipologie aziendali, a motivo della povertà delle risorser.

Possiamo quindi affermare che le aziende biologiche con bovini si avvalgono più copiosamente delle economie di scala rispetto alle aziende convenzionali e che il processo si è andato accentuando negli anni.

L'incidenza del numero delle vacche da latte sui capi grossi tende a mantenersi sopra il 70% nel periodo per entrambe le tipologie aziendali, in relazione alla loro collocazione nel comprensorio del formaggio Parmigiano-Reggiano.

Pertanto la dimensione delle mandrie può essere espressa anche dal numero di

Tabella 1 – Indici strutturali delle aziende biologiche e convenzionali a confronto

DESCRIZIONE	Unità di misura	BIOLOGICHE			CONVENZIONALI			VARIAZIONE % Biologiche/ Convenzionali	
		1995	1999	Variazione % 1999/95	1995	1999	Variazione % 1999/95	1995	1999
Aziende	n	9	9	-	12	12	-	-25,00	-25,00
SAU/Aziende	ha	66,39	93,28	40,50	45,89	46,44	1,20	44,67	100,86
SAT in proprietà/SAT	%	30,7	31,8	3,58	52,3	58,1	11,09	-41,30	-45,27
SAUF/SAU	%	82,2	88,9	8,15	79,6	81,7	2,64	3,27	8,81
SAU intercalare/SAU	%	4,4	3,5	-20,45	1,9	2,4	26,32	131,58	45,83
ULU/Aziende	n	3,47	4,11	18,44	3,03	3,06	0,99	14,52	34,31
Ore di lavoro/ULU	n	2.419	2.379	-1,65	2.775	2.720	-1,98	-12,83	-12,57
ULUF/ULU	%	61,5	50,8	-17,40	89,8	84,2	-6,24	-31,51	-39,67
SAU/ULU	ha	19,15	22,70	18,54	15,13	15,18	0,33	26,57	49,54
Potenza macchine/SAU	HP	6	5	-16,67	12	14	21,19	-49,15	-65,03
Potenza macchine/ULU	HP	92	82	-10,85	178	217	21,87	-48,17	-62,08
Miglioram. fond./SAT in propr.	000lire	7.696	5.627	-26,88	3.738	6.554	75,33	105,89	-14,14
Capitale agrario/SAU	000lire	7.051	7.377	4,62	9.600	11.691	21,78	-26,55	-36,90
Capitale agrario/ULU	000lire	135.038	167.375	23,95	145.224	177.532	22,25	-7,01	-5,72
Macchine/Capitale agrario	%	20,6	20,8	0,97	36,1	41,7	15,51	-42,94	-50,12
Bestiame/Capitale agrario	%	33,7	36,5	8,31	30,4	26,7	-12,17	10,86	36,70
Scorte e ant./Capitale agrario	%	45,7	42,7	-6,56	33,5	31,6	-5,67	36,42	35,13
Capi grossi bovini/SAUF	n	1,7	1,6	-5,88	2,3	2,4	4,35	-26,09	-33,33
Capi grossi bovini /Aziende	n	90,5	131,8	45,64	82,6	89,5	8,35	9,56	47,26
Capi grossi bovini /ULU	n	26,1	32,1	22,99	27,2	29,3	7,72	-4,04	9,56
Vacche/Aziende	n	64,1	96,3	50,23	59,8	62,1	3,85	7,19	55,07
Vacche/ULU	n	18,5	23,4	26,49	19,7	20,3	3,05	-6,09	15,27
Vacche/Capi grossi bovini	%	70,9	73,1	3,10	72,3	69,4	-4,01	-1,94	5,33

SAT: Superficie Agricola Totale; SAU: Superficie Agricola Utile; SAUF: Superficie Agricola a Foraggiere  
ULU: Unità Lavoratrice Uomo.

vacche mediamente presenti, che riflettono esattamente le differenze riscontrate per i capi grossi.

Nel 1995 negli allevamenti biologici troviamo 64 vacche e 60 in quelli convenzionali. Nel 1999 le vacche passano a 96 (+50%) negli allevamenti biologici e a 62 in quelli convenzionali (+4%). Lo scarto era del 7% nel 1995 ed è passato al 55% nel 1999. In pratica si riscontra un appiattimento sull'esistente negli allevamenti convenzionali ed uno sviluppo in quelli biologici.

Le limitazioni delle quote latte non sono state un freno per le aziende biologiche che hanno investito notevoli capitali nell'acquisto sul mercato delle quote disponibili, mentre le aziende convenzionali hanno preferito non rischiare.

E' una ulteriore conferma della dinamicità dell'agricoltura biologica, in particolare dell'allevamento bovino, che ha portato una ventata di rinnovamento in una agricoltura che sembra ripiegarsi su se stessa di fronte alle difficoltà tecniche e mercantili del periodo.

La forma di conduzione aziendale riflette le precedenti strategie d'impresa. Infatti le aziende biologiche dipendono per il 39% dai lavoratori dipendenti, mentre quelle convenzionali si limitano al 10% nel 1995. Passando al 1999, le prime sopprimono alla metà del fabbisogno di lavoro con i salariati, mentre le seconde si limitano al 16%. L'impronta delle aziende convenzionali è tipicamente familiare mentre le biologiche stanno diventando sempre più capitalistiche, in seguito all'ampliamento delle dimensioni produttive e a fronte di una rigidità del lavoro familiare.

Il titolo di possesso prevalente nelle aziende è quello misto, parte in proprietà e parte in affitto per entrambe le tipologie aziendali. Solo che nelle aziende biologiche la proprietà incide solo per il 31% rispetto al 52% delle convenzionali. Nel quinquennio cresce leggermente la parte in proprietà per entrambe le aziende.

L'elasticità della maglia aziendale è correlata alla acquisizione di terra in affitto, alla quale attingono con copiosità le aziende biologiche riuscendo ad ampliare in maniera significativa la dimensione aziendale con l'acquisizione di 2/3 della superficie in affitto.

Viene confermata ancora una volta la diffusione del grande affitto nell'agricoltura biologica con allevamento bovino, con l'affermazione di una conduzione mercantile dell'impresa impostata sulle grandi dimensioni aziendali.

L'ampliamento della mandria ha portato un adeguamento anche nei sistemi di stabulazione, quasi esclusivamente liberi in entrambe le tipologie aziendali.

## *5. Evoluzione delle strutture aziendali*

### *5.1 Premessa*

Gli allevamenti bovini biologici e quelli convenzionali sono stati seguiti in particolare sotto l'aspetto contabile nel corso di un quinquennio per mettere in evidenza i punti forti e quelli deboli della gestione, dai quali trarre delle indicazioni utili sulle prospettive future.

Iniziamo con l'analisi delle caratteristiche strutturali delle aziende dalle quali discendono le risultanze economiche. L'obiettivo del reddito è comune alle aziende biologiche e a quelle convenzionali, specie per quelle rivolte al mercato. Pertanto dallo studio e dal confronto tra i due modi di produrre si andrà alla ricerca degli elementi distintivi nella combinazione dei fattori della produzione e dei risultati economici che ne sono conseguiti.

### *5.2 Il lavoro*

Dalla descrizione delle caratteristiche del campione abbiamo già messo in evidenza che l'aspetto distintivo che caratterizza la forza lavoro nelle aziende biologiche, rispetto a quelle convenzionali, è l'impronta capitalistico-lavoratrice che si è ulteriormente accentuata nel corso degli anni. Le aziende convenzionali hanno invece mantenuto la struttura familiare del lavoro, pur concedendo alcuni punti percentuali al lavoro dipendente.

Nelle aziende di montagna si accentua la presenza del lavoro familiare in entrambe le tipologie aziendali. Pertanto è nelle aree di pianura che trova maggiore spazio il lavoro dipendente, con imprese più capitalistiche.

Tabella 2 – Indici economici delle aziende biologiche e convenzionali a confronto

DESCRIZIONE	Unità di misura	BIOLOGICHE			CONVENZIONALI			VARIAZIONE % Biologiche/ Convenzionali	
		1995	1999	Variazione % 1999/95	1995	1999	Variazione % 1999/95	1995	1999
<b>PRODUZIONI</b>									
PLV/Aziende	000lire	598.303	609.741	1,90	509.768	376.783	-26,10	17,40	61,80
PLV/SAU	000lire	9.012	6.537	-27,46	11.109	8.113	-26,97	-18,88	-19,43
PLV/ULU	000lire	172.588	148.315	-14,06	168.055	123.199	-26,69	2,70	20,39
PLV animale/PLV	%	84,0	76,6	-8,81	92,2	93,3	1,19	-8,89	-17,90
PLV vegetale/PLV	%	6,5	11,8	81,54	5,0	3,4	-32,00	30,00	247,06
Altra PLV/PLV	%	9,5	11,6	22,11	2,8	3,3	17,86	239,29	251,52
Latte/PLV	%	78,4	76,6	-2,30	86,4	89,5	3,59	-9,26	-14,41
Latte/PLV animale	%	93,4	89,8	-3,85	93,7	95,9	2,35	-0,32	-6,36
Latte/Aziende	q	3.676	5.110	39,01	3.449	4.121	19,48	6,58	24,00
Latte/Vacche	q	57,3	53,0	-7,50	57,7	66,4	15,08	-0,69	-20,18
Contributi pubblici/Aziende	000lire	29.999	44.603	48,68	5.315	8.064	51,72	464,42	453,11
Contributi pubblici/PLV	%	5,0	7,3	46,00	1,0	2,1	110,00	400,00	247,62
Contributi Bio/Contr. pubblici	%	61,1	82,6	35,19	-	-	-	-	-
Contributi pubblici/ULUF	000lire	14.062	21.353	51,85	1.950	3.132	60,62	621,13	581,77
Contributi pubblici/SAU	000lire	452	478	5,75	116	174	50,00	289,66	174,71
<b>SPESE</b>									
Spese di reintegrazione/SAU	000lire	3.249	3.357	3,32	4.523	5.618	24,21	-28,17	-40,25
Spese di reintegrazione/PLV	%	36,0	51,4	42,78	40,7	69,2	70,02	-11,55	-25,72
Spese extraziendali/SAU	000lire	151	247	63,58	287	462	60,98	-47,39	-46,54
Spese extraziendali/PLV	%	1,7	3,8	123,53	2,6	5,7	119,23	-34,62	-33,33
Concimi/SAU	000lire	13	42	223,08	129	149	15,50	-89,92	-71,81
Presidi sanitari/SAU	000lire	12	42	250,00	64	43	-32,81	-81,25	-2,33
Medicinali/Capi grossi bovini	000lire	49	42	-14,29	97	166	71,13	-49,48	-74,70
Mangimi/Capi grossi bovini	000lire	1112	991	-10,88	961	1083	12,70	15,71	-8,49
Foraggi/Capi grossi bovini	000lire	84	214	154,76	204	180	-11,76	-58,82	18,89

J.

Nel 1995 operavano nelle aziende biologiche 3,5 unità lavoratrici, contro le 3,0 in quelle convenzionali. Nel 1999 osserviamo una crescita degli addetti del 18% nelle biologiche e rimane praticamente invariato il numero degli addetti nelle aziende convenzionali. Nello stesso periodo la superficie delle aziende biologiche cresce del 41% e la mandria del 46%.

La struttura del lavoro è chiaramente legata alle dimensioni aziendali che, come si è visto, sono assai più estese in quelle biologiche. Superfici maggiori e mandrie più numerose necessitano di maggiore lavoro e di manodopera salariata.

Non esiste però una correlazione analoga nelle due tipologie aziendali: nel 1999 il grado di attività è infatti di 19 ettari SAU nelle aziende biologiche e di 15 in quelle convenzionali. Se osserviamo l'evoluzione del 1999 si conferma lo stesso risultato per le aziende convenzionali, mentre nelle aziende biologiche si passa ad un grado di attività di 23 ettari SAU (+19%).

Le aziende biologiche sembrano valorizzare di più e meglio il lavoro umano, tenuto conto che mediamente l'impegno di una unità lavoratrice a tempo pieno è di circa 2.400 ore annue nelle aziende biologiche e di oltre 2.700 nelle aziende convenzionali. Questa differenza è chiaramente legata alla tipologia dei lavoratori. Infatti il

Continua Tabella 2 – Indici economici delle aziende biologiche e convenzionali a confronto

DESCRIZIONE	Unità di misura	BIOLOGICHE			CONVENZIONALI			VARIAZIONE % Biologiche/ Convenzionali	
		1995	1999	Variazione % 1999/95	1995	1999	Variazione % 1999/95	1995	1999
<b>PRODUTTIVITA' NETTA</b>									
Prodotto netto/SAU	000lire	5.612	2.932	-47,75	6.299	2.034	-67,71	-10,91	44,15
Prodotto netto/ULU	000lire	107.485	66.533	-38,10	95.289	30.886	-67,59	12,80	115,41
Prodotto netto/PLV	%	62,3	44,9	-27,93	56,7	25,1	-55,73	9,88	78,88
<b>REDDITIVITA'</b>									
Reddito netto/SAU	000lire	4.132	1.277	-69,09	5.633	1.028	-81,75	-26,65	24,22
Reddito netto/ULUF	000lire	128.590	57.044	-55,64	94.847	18.538	-80,45	35,58	207,71
Reddito netto/PLV	%	45,9	19,5	-57,5	50,7	12,7	-75,00	-9,5	53,5
Reddito di lavoro fam./ULUF	000lire	111.969	30.859	-72,44	82.465	510	-99,38	35,78	5950,78
Reddito di lavoro fam./Ore fam.	lire	45.335	12.455	-72,53	29.307	186	-99,37	54,69	6596,24
Redditi extraziendali/ULUF	000lire	13.188	10.566	-19,88	13.058	17.860	36,77	1,00	-40,84
<b>COSTO DEL LATTE</b>									
Prezzo del latte	Lire/q	92.506	99.779	7,86	88.879	101.695	14,42	4,08	-1,88
Prezzo del latte	Lire/q	127.625	82.134	-35,64	127.664	81.822	-35,91	-0,03	0,38
Profitto	Lire/q	35.119	-17.645	-150,24	38.785	-19.873	-151,24	-9,45	-11,21
Costo del latte al netto contr. Bio	Lire/q	87.521	92.567	5,77	-	-	-	-	-

PLV: Produzione Lorda Vendibile; ULUF: Unità Lavoratrice Familiare.

lavoratore dipendente si limita alle prestazioni contrattuali, mentre il lavoratore familiare non ha limiti di orario.

In effetti si potrebbe anche pensare a migliori condizioni nella qualità del lavoro e della vita nelle aziende biologiche, meno esasperate nell'impiego di lavoro agricolo e più aperte con il mondo esterno, alla ricerca di nuove esperienze per modulare le fatiche dei campi.

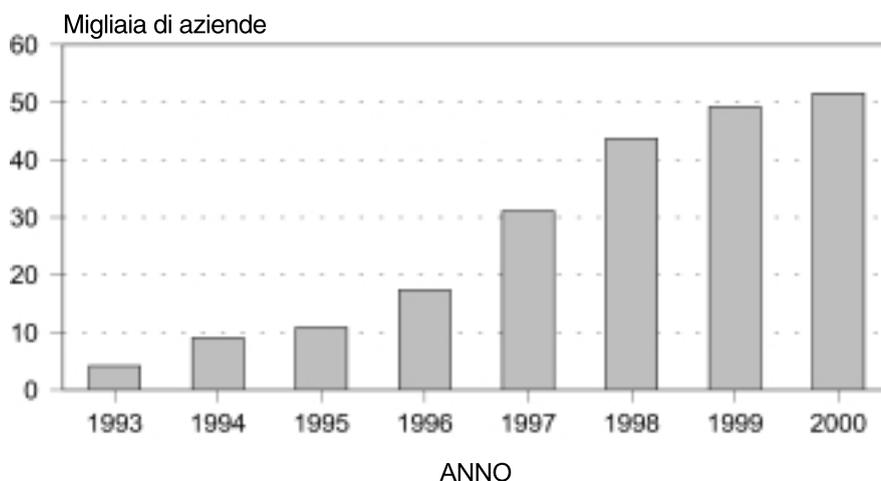
Una conferma ulteriore la troviamo nel numero di vacche per unità lavoratrice: si parte con un numero analogo nel 1995 di 19 e 20, per arrivare nel 1999 con 23 e 20 rispettivamente, il 15% in più di vacche per addetto nelle aziende biologiche. La migliore valorizzazione del lavoro nelle aziende biologiche continua anche per quanto riguarda la gestione della mandria, con un carico di vacche che si fa più accentuato.

Le condizioni di partenza e l'evoluzione della struttura del lavoro depongono a favore delle aziende biologiche rispetto alle aziende convenzionali, nella prospettiva di valorizzare le economie di scala.

### 5.3 Il capitale fondiario

Il metodo di produzione biologica interessa le aziende decisamente orientate verso il mercato e dotate di cospicue strutture aziendali. Questo è tanto più vero per le aziende di montagna che risultano le più estese, con 75 ettari SAU nel 1995, e che perseguono l'obiettivo di un ulteriore allargamento nel 1999 (+52%) mentre in pianura la crescita è stata inferiore (+22%). Le aziende convenzionali mantengono la

Graf. 1 - Aziende biologiche in Italia



Fonte: Bio Bank

loro rigidità strutturale nel quinquennio, per cui si accresce l'handicap della dimensione rispetto alle aziende biologiche.

Le aziende biologiche, si ripete, partono con una dimensione media di 66 ettari SAU nel 1995 per arrivare a 93 ettari nel 1999 (+41%). Nello stesso arco di tempo la dimensione media delle aziende convenzionali non subisce variazioni e si colloca sui 46 ettari SAU.

La presenza delle foraggere nell'ordinamento colturale è molto elevata. Era l'82% nel 1995 nelle aziende biologiche per passare all'89% nel 1999 (+8%). Leggermente inferiore si presenta l'incidenza nelle aziende convenzionali (80%) e l'espansione è più modesta con l'82% nel 1999 (+3%).

Per entrambe le tipologie la montagna ha una incidenza più elevata delle colture foraggere, non essendovi spazio per le colture vendibili, in relazione al clima meno favorevole e alla minore fertilità dei terreni.

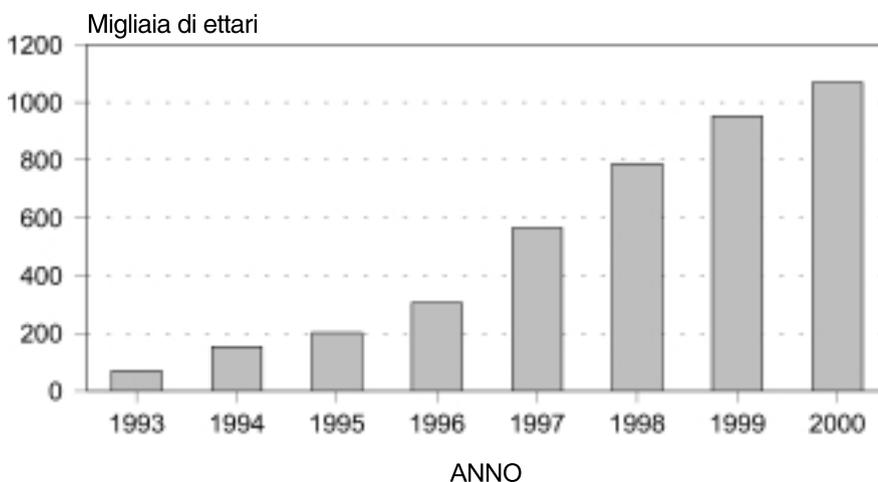
Gli investimenti in miglioramenti fondiari per ettaro di superficie in proprietà confermano ancora una volta l'impegno delle aziende biologiche, che nel 1995 mostravano dei valori di 7,7 milioni di lire, più che doppi (+106%) rispetto a quelli delle aziende convenzionali, con 3,7 milioni di lire.

Il vantaggio si annulla negli anni successivi perché l'acquisizione di terra nelle aziende biologiche diluisce in una superficie maggiore gli investimenti fondiari.

#### 5.4 Il capitale agrario

Anche per il capitale agrario gli investimenti sono cospicui ma diluiti su una maggiore superficie e su un numero più elevato di addetti nelle aziende biologiche, per cui i parametri di confronto vedono avvantaggiate le aziende convenzionali con 9,6 milioni di lire per ettaro SAU rispetto ai 7,1 delle biologiche (- 27%).

Graf. 2 - Superficie biologica e in conversione



Fonte: Bio Bank

L'evoluzione nel quinquennio non fa che accentuare la differenza (-37%) a motivo dell'aumento della superficie nelle aziende biologiche. In ogni caso gli investimenti sono in crescita nei valori assoluti per le due tipologie aziendali: +5% nelle biologiche e +22% nelle convenzionali. Per zona altimetrica l'intensità agraria è a favore delle aree di pianura rispetto alla montagna, come era logico attendersi.

Gli investimenti per addeito vedono sempre avvantaggiate le aziende biologiche per l'intero periodo (+7% e +6%) mentre la crescita è comune ad entrambe: da 135 a 167 milioni di lire per addeito nelle aziende biologiche (+24%) e da 145 a 178 milioni di lire in quelle convenzionali (+22%) passando dal 1995 al 1999.

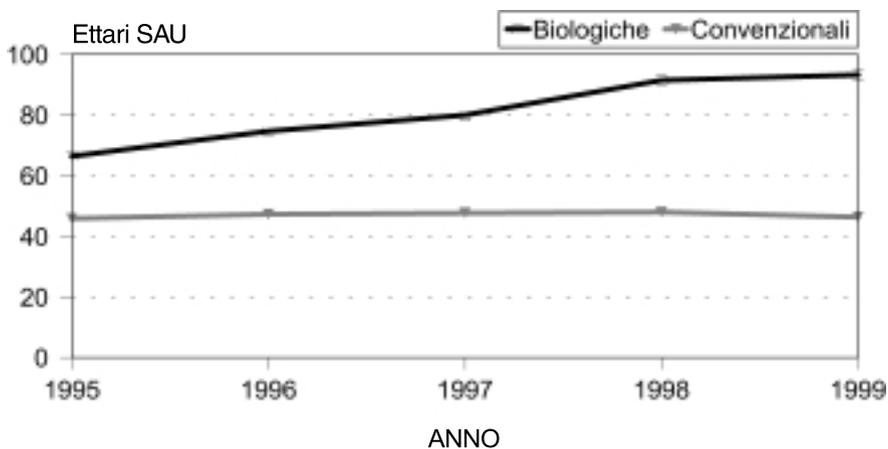
Certamente con queste premesse anche la potenza delle macchine è molto più elevata nelle aziende convenzionali: si tratta di valori circa doppi nel 1995 e che tendono a triplicarsi nel 1999 rispetto alle aziende biologiche.

Nella ripartizione del capitale agrario osserviamo che nelle aziende biologiche la componente percentuale dei prodotti di scorta e del capitale di anticipazione è sempre prevalente sia nel 1995 (46%) che nel 1999 (43%). Viceversa nelle aziende convenzionali vengono privilegiate le macchine che dal 36% del 1995 passano al 42% nel 1999, mentre nelle aziende biologiche l'incidenza delle macchine sul capitale agrario si mantiene costante sul 21%.

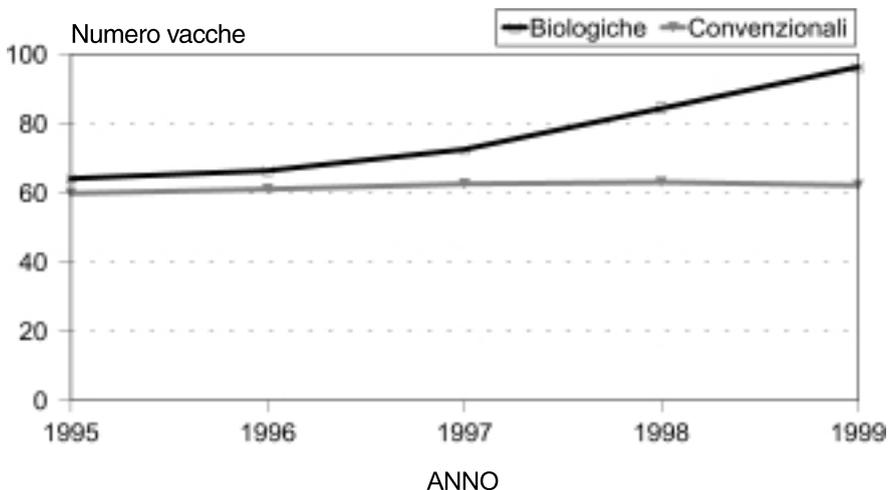
Le strategie dei due tipi d'impresa si colgono soprattutto a livello di meccanizzazione: più intensiva nelle aziende convenzionali e più estensiva in quelle biologiche. L'incidenza più elevata del capitale di anticipazione nelle aziende biologiche è legata alla maggior presenza di lavoratori dipendenti che rappresentano un costo esplicito per l'azienda, con esborsi monetari cospicui nel corso dell'intera annata agraria.

Il capitale bestiame rappresenta la terza parte del capitale agrario la cui incidenza si accresce nel periodo per le aziende biologiche, passando dal 33,7% al 36,5%,

Graf. 3 - Superficie media delle aziende



Graf. 4 - Consistenza delle vacche per azienda



mentre le aziende convenzionali vedono ridursi tale incidenza, dal 30,4% si passa al 26,7%. Ciò non significa un calo della consistenza della mandria la cui crescita è stata dell'8% nelle aziende convenzionali, mentre le biologiche sono arrivate ad una crescita del 46% dei capi grossi nel corso del quinquennio.

La propensione alla gestione più estensiva degli allevamenti biologici è confermata da un carico minore di capi grossi bovini per ettaro foraggero nel 1995 e nel 1999 (da 1,7 a 1,6) rispetto agli allevamenti convenzionali (da 2,3 a 2,4). Il dato è molto importante perché è indice di minore sfruttamento delle superfici foraggere, in

linea con la strategia di minore intensificazione produttiva per il mancato uso di concimi chimici.

Il capitale bestiame per unità lavoratrice era pressoché analogo nel 1995 nelle due tipologie aziendali, mentre la crescita nel 1999 privilegia le aziende biologiche (+23%) rispetto a quelle convenzionali (+8%), in coerenza con la crescita numerica dei capi per addetto. La strategia delle aziende biologiche è sempre quella di sfruttare le economie di scala con la valorizzazione delle unità lavoratrici disponibili.

## *6. Evoluzione dei risultati economici*

### *6.1 Premessa*

Le condizioni strutturali delle aziende sono la premessa per il conseguimento degli obiettivi economici. I valori sono espressi in lire correnti, se dovessimo tenere conto del ritmo inflattivo la perdita di potere d'acquisto della lira sarebbe stata del 9,3% nel 1999 rispetto al 1995.

I bilanci economici delle aziende sono stati riclassificati nel quinquennio sulla scorta dei prezzi definitivi del latte liquidato dai caseifici. Infatti il prezzo di trasformazione del latte può subire conguagli negli anni successivi, secondo le condizioni di vendita del formaggio, per cui il bilancio economico del 1999 è stato riclassificato alla fine del 2000.

La destinazione industriale del latte è comune a tutte le aziende, tranne due aziende biologiche che producono latte alimentare. Ciò comporta una omogeneità nella destinazione del latte e quindi dei prezzi realizzati.

La valorizzazione del formaggio biologico, quando viene effettivamente differenziato, è ancora agli inizi ed i relativi frutti troveranno una ricaduta nei bilanci futuri delle aziende biologiche.

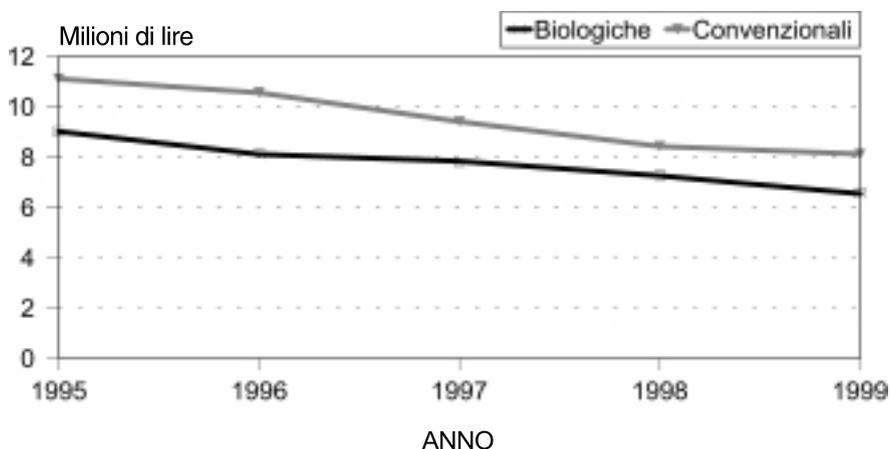
### *6.2 La produzione*

Le strategie imprenditoriali adottate nella combinazione dei fattori della produzione trovano una ricaduta sui risultati economici. Infatti il primo segnale distintivo tra aziende biologiche e convenzionali è la diversa intensificazione produttiva.

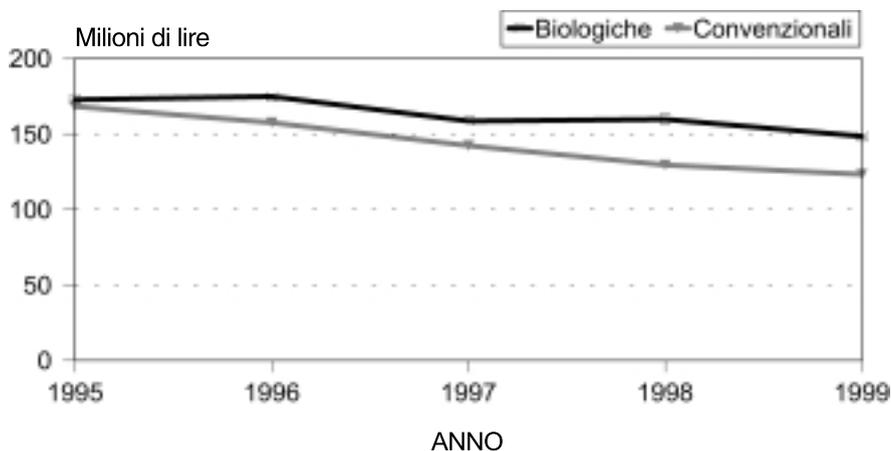
Si mantiene evidentemente inferiore nelle prime, con una Plv, a lire correnti, di 9,0 milioni di lire per ettaro SAU nel 1995, rispetto alle seconde, con 11,1 milioni; pertanto la produttività delle prime è inferiore del 19% ed è tale anche nel 1999, con modeste oscillazioni nel periodo.

In valori assoluti la produttività è andata diminuendo in modo costante nei cinque anni a causa della crisi di mercato dei formaggi grana, con congiunture sfavorevoli per tutto il periodo. E questo ha colpito tutte le aziende, per l'analoga destinazione industriale del latte. Infatti il calo di produttività per ettaro SAU è stato mediamente del 27%, con ripercussioni sui risultati economici complessivi. La conseguenza principale dello stato di crisi del comparto è che, nonostante l'ampliamento della superficie e l'aumento dei capi, le aziende biologiche hanno realizzato un analogo valore della produzione nel 1995 e nel 1999 (598 e 610 milioni di lire rispettivamente). Le condizioni sono invece peggiorate nelle aziende convenzionali la cui produzione è calata del 26%, passando da 510 a 377 milioni di lire per azienda.

Graf. 5 - Produzione lorda vendibile per ettaro SAU



Graf. 6 - Produzione lorda vendibile per ULU



I risultati si capovolgono se guardiamo alla produttività del lavoro. Le aziende biologiche hanno realizzato una produzione per addetto mediamente superiore per tutto il periodo rispetto alle aziende convenzionali. Lo scarto è andato aumentando perché dal 3% in più per le aziende biologiche nel 1995 si è passati al 20% in più nel 1999. E' la conferma delle considerazioni svolte in precedenza circa la migliore valorizzazione del lavoro nelle aziende biologiche grazie allo sviluppo delle economie di scala.

E' il prezzo del latte in continua discesa che ha condizionato pesantemente il livello di produttività delle aziende. Il prezzo del latte è infatti sceso mediamente del

36% per tutte le aziende dal 1995 al 1999. La situazione non sembra ancora migliorare; si tratta della peggiore e più lunga crisi di mercato dei formaggi grana che si ricordi.

Non sempre è stato così, negli anni precedenti infatti la congiuntura favorevole dei formaggi grana aveva portato il prezzo a riferimento del latte in provincia di Parma ad un massimo di 113.000 lire il quintale nel 1995, con consistenti cali nel quinquennio successivo.

In realtà il prezzo realizzato dalle aziende che conferiscono il latte ai caseifici sociali è stato mediamente superiore. Infatti nel 1995 le aziende dei due campioni hanno realizzato un prezzo medio del latte di quasi 128.000 lire il quintale, mentre nel 1999 si è scesi attorno alle 82.000 lire.

Nelle aziende biologiche la valorizzazione del latte non ha ancora trovato piena espressione, con un maggior riconoscimento di prezzo. Infatti la vendita del formaggio come biologico è iniziata di recente e i frutti si coglieranno nei prossimi bilanci delle aziende. I tempi di conversione delle colture e degli allevamenti e le fasi di produzione e trasformazione del latte, nonché la stagionatura del formaggio, richiedono un arco di tempo piuttosto lungo. Qualche vantaggio immediato è stato conseguito dai due allevamenti che hanno venduto il latte alimentare all'industria, con un riconoscimento di prezzo attorno al 10%.

Per zona altimetrica il prezzo del latte tende a privilegiare le aziende di montagna, anche se non mancano delle eccezioni legate principalmente ad inconvenienti nella trasformazione che hanno fatto aumentare l'incidenza degli scarti del formaggio con grave ripercussioni sul prezzo.

La specializzazione zootecnica è comune a tutte le aziende, ma in quelle convenzionali è leggermente più accentuata (92%) rispetto alle biologiche (84%) nel 1995. Il divario aumenta nel 1999 dove le aziende convenzionali mantengono una analoga posizione (93%), mentre le biologiche scendono al 77%, per la contemporanea crescita della componente vegetale. Ciò non significa un cambiamento di indirizzo produttivo delle aziende quanto l'effetto del prezzo decrescente del latte che incide sulle produzioni zootecniche. In ogni caso le aziende biologiche mantengono ancora una certa differenziazione produttiva, valorizzando anche le produzioni vegetali vendibili.

In montagna non vi sono alternative alla zootecnia e la produzione foraggera da valorizzare nella trasformazione animale è una strada obbligata per tutte le aziende esaminate.

Nell'ambito della specializzazione zootecnica è il latte che occupa l'interesse dell'allevatore; sotto questo punto di vista i due gruppi sono abbastanza omogenei e il latte supera sempre il 90% della produzione animale, sino ad arrivare al 97% in montagna. Pertanto la produzione di carne ha un ruolo marginale.

La produzione media di latte per vacca vede i due gruppi differenziarsi nel corso del periodo. Si parte da una produzione analoga di 58 quintali di latte per vacca nel 1995. Negli anni successivi le aziende biologiche scendono a 53 quintali (-8%), mentre le convenzionali crescono del 15%. Da una parte di accentua l'estensivazione e dall'altra parte cresce l'intensificazione produttiva. Le aziende biologiche cercano compensazione nell'ampliamento della mandria e nella crescita del numero di capi sottesi ad ogni lavoratore. Le aziende di montagna hanno sempre una produttività inferiore nei gruppi.

Oltre alla produzione vegetale e animale, entrano a far parte della Plv ulteriori entrate nelle quali trovano collocazione anche i contributi pubblici, in relazione alla nuova PAC. Le aziende biologiche sono avvantaggiate rispetto alle convenzionali perché si possono avvalere dei contributi aggiuntivi previsti dal Reg. Ce 2078/92, relativi all'agricoltura ecocompatibile.

Le "altre" voci della Plv sono tendenzialmente in crescita per tutte le aziende, solo che la loro incidenza è maggiore nelle aziende biologiche con oscillazioni tra il 10% e il 18% della Plv, mentre nelle aziende convenzionali si aggirano attorno al 3%.

Interessante rilevare l'apporto dei contributi pubblici che in complesso aumentano a 30,0 milioni di lire per azienda biologica e a 5,3 milioni per azienda convenzionale nel 1995. Dopo cinque anni le aziende biologiche incassano 44,6 milioni di lire per azienda (+49%) e quelle convenzionali 8,1 milioni (+52%). Il rapporto dei contributi ottenuti nei due gruppi si mantiene sul 6 a 1. I contributi pubblici incidono sulla Plv dal 5 al 10% nelle aziende biologiche, mentre in quelle convenzionali arrivano al massimo al 2%.

Un indice abbastanza significativo è l'entità dei contributi pubblici per unità lavoratrice familiare. Nelle aziende biologiche oscilla mediamente tra un minimo di 14,1 milioni di lire sino ad arrivare ad un massimo di 29,9 milioni; quelle convenzionali si limitano a 1,5 milioni di lire con un massimo di 3,1 milioni. Da ricordare che i contributi pubblici all'agricoltura biologica possono arrivare all'88% di tutti i contributi riscossi dalle aziende biologiche, in ogni caso non scendono mediamente sotto il 61% e danno un apporto significativo al sostegno del nuovo modo di produrre.

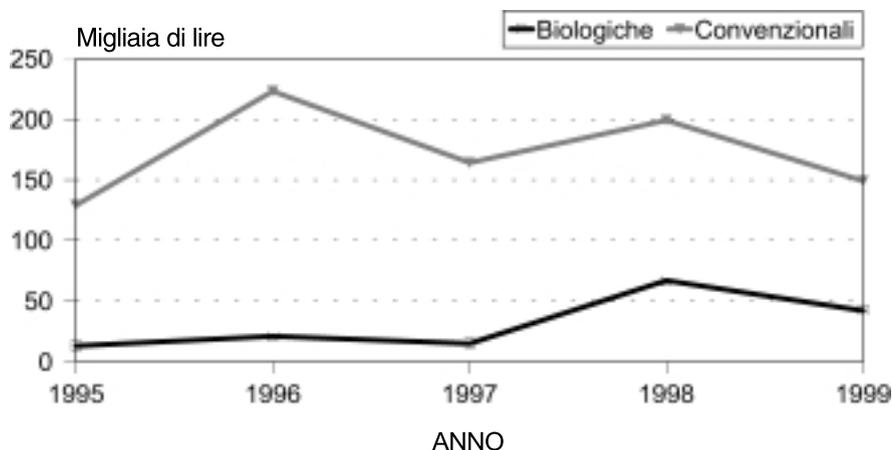
I contributi pubblici per ettaro SAU vanno mediamente da 779.000 lire a 452.000 nelle aziende biologiche e da 88.000 lire a 174.000 in quelle convenzionali. Da tenere presente che non tutta la superficie può godere dei contributi pubblici per cui facendo la media sulla SAU l'entità del contributo viene ripartito su una superficie maggiore.

### *6.3 Le spese*

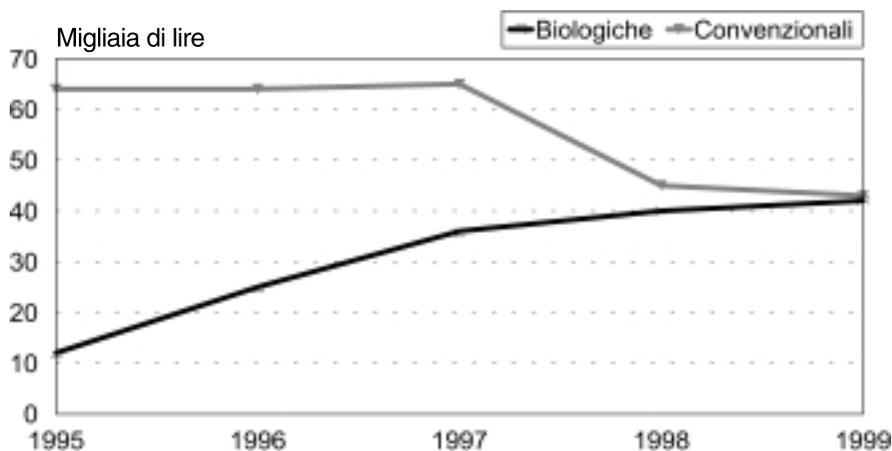
Livelli di produttività lorda diversi comportano differenze significative nelle spese di reintegrazione tra aziende biologiche e convenzionali. Per ettaro produttivo si trovano sempre in testa le aziende convenzionali con 4,5 milioni di lire nel 1995, rispetto ai 3,2 milioni delle aziende biologiche (- 28%). Ancora maggiore è la differenza nel 1999 quando le aziende convenzionali superano i 5,6 milioni di lire per ettaro Sau e quelle biologiche si mantengono sui 3,4 milioni di lire (- 40%). Infatti il trend di crescita è molto maggiore nelle prime aziende (+24) rispetto alle seconde (+3%). I risultati confermano ancora una volta le differenti strategie d'impresa e la corsa più accelerata delle aziende convenzionali ai mezzi produttivi del mercato, mentre nelle aziende biologiche vengono mantenuti livelli decisamente inferiori.

Questo aspetto può essere colto dall'analisi dell'incidenza delle spese di reintegrazione sulla Plv, decisamente superiore nelle aziende convenzionali che passano dal 41% al 69% nel periodo, quando nelle biologiche nello stesso arco di tempo si riscontra una incidenza del 36% e del 51%. Per entrambe le tipologie aziendali l'incidenza è cresciuta notevolmente, non tanto per la crescita delle relative spese quanto per la contrazione della Plv nel periodo, che sappiamo avere raggiunto il 27% in

Graf. 7 - Spese di concime per ettaro SAU



Graf. 8 - Spese di presidi sanitari per ettaro SAU



meno. L'effetto della produzione decrescente a fronte di spese crescenti non può che determinare un effetto moltiplicatore nel rapporto percentuale tra le due voci.

All'interno delle spese di reintegrazione le due componenti, che sono rappresentate dalle spese variabili e da quelle fisse, mantengono un sostanziale equilibrio nel periodo nelle due tipologie aziendali.

Un cenno meritano anche le spese extra-aziendali le quali, pur avendo scarsa incidenza sulla Plv, hanno avuto una crescita consistente nel periodo, superiore del 60% per tutte le aziende. In ogni caso la loro entità è sempre superiore nelle aziende con-

venzionali rispetto alle biologiche di circa il 90%, con riferimento all'ettaro di superficie. Il risultato è frutto della maggiore estensione delle aziende biologiche con una analoga diluizione della spesa, da considerare pressoché fissa perché riguarda gli oneri sociali, imposte e contributi, prestazioni sanitarie ecc.

Un approfondimento particolare meritano le spese specifiche legate all'allevamento. La spesa per l'acquisto di mangimi per capo grosso conferma quanto rilevato in precedenti ricerche, e cioè che le aziende biologiche spendono di più come media di gruppo, eccetto nel 1995. In realtà sono le aziende biologiche di montagna che incidono di più sui risultati, perché le aziende biologiche di pianura si dimostrano più parsimoniose nella spesa dei mangimi rispetto alle aziende convenzionali di pianura. In ogni caso il mangime biologico ha un costo superiore a quello convenzionale.

Per quanto riguarda la montagna la differenza può essere dovuta anche all'inefficienza delle aziende e/o all'ampliamento della mandria, non adeguatamente compensato dall'espansione della produzione di alimenti aziendali, con la necessità di acquisti sul mercato.

Per quanto riguarda i foraggi i risultati sono piuttosto alterni. Rimane confermato che l'acquisto di foraggi rappresenta ormai una spesa ordinaria per le aziende e non sono più un intervento di soccorso per far fronte agli imprevisti della stagione. La spesa è necessaria per far fronte al maggior carico di bestiame per ettaro foraggero e alla maggiore produttività delle vacche. In ogni caso le aziende biologiche sono più parsimoniose negli acquisti di foraggi sul mercato rispetto alle convenzionali, in coerenza con le diverse strategie produttive e alla produttività del bestiame. Bisogna per altro riconoscere che la variabilità della spesa è elevata nei vari anni perché i fabbisogni sono ancora soggetti alle variabilità stagionali, che incidono sull'autoapprovvigionamento aziendale.

A questo proposito va ricordato che le aziende biologiche ricorrono più copiosamente alle colture intercalari, generalmente foraggere, per aumentare l'approvvigionamento aziendale. Questo è tanto più vero per le aziende biologiche di pianura nelle quali l'incidenza della superficie intercalare sulla SAU può arrivare al 12%, mentre in quelle convenzionali non supera il 6%.

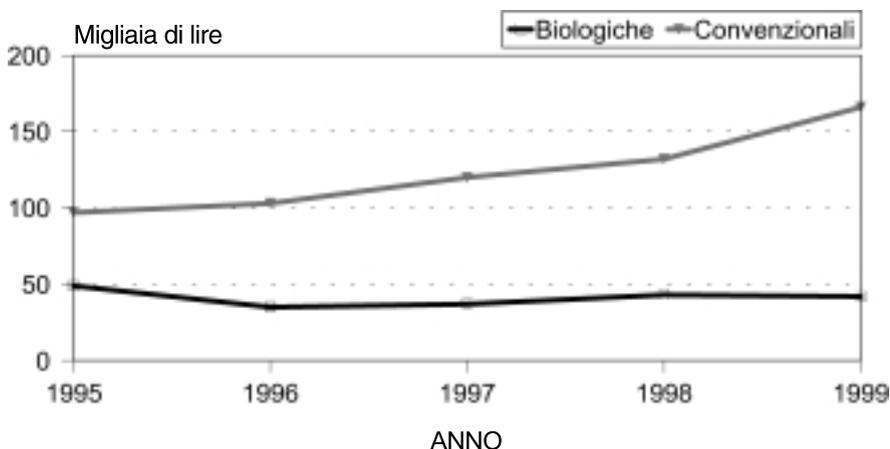
Le spese mercantili che dovrebbero differenziare maggiormente il metodo biologico di produzione dal metodo convenzionale sono quelle relative ai concimi, ai presidi sanitari e ai medicinali per il bestiame, dato che la normativa sul biologico ne limita notevolmente l'impiego.

In effetti tutte le spese indicate sono mediamente inferiori nelle aziende biologiche, con particolare evidenza per i concimi. La loro presenza tra le voci si spesa non deve meravigliare, si tratta di un impiego limitato e relativo a prodotti consentiti dalla normativa contenuta nel Reg. 2092/91 e successive modifiche e integrazioni.

Mediamente il consumo di concimi è stato di 13.000 lire per ettaro SAU nelle aziende biologiche nel 1995 e di 129.000 in quelle convenzionali, dieci volte superiore. Nel corso del quinquennio le spese hanno subito alterne vicende, mantenendo comunque uno scarto molto elevato tra le due tipologie aziendali. La valorizzazione della fertilizzazione organica e la propensione all'estensificazione delle produzioni trovano piena coerenza nelle aziende biologiche.

Per i presidi sanitari si mantiene ancora elevato lo scarto nel 1995 con una spesa

Graf. 9 - Spese di medicinali per capo grosso



di 12.000 lire per ettaro SAU nelle aziende biologiche e 64.000 in quelle convenzionali, successivamente lo scarto si riduce sino ad annullarsi nel 1999 per l'espansione di vigneti e frutteti nelle aziende biologiche, volti a differenziare le produzioni aziendali, mentre nelle aziende convenzionali l'ordinamento produttivo restringe le produzioni vegetali vendibili con contrazione delle spese per i presidi sanitari.

In montagna il ridotto uso di presidi sanitari è comune alle aziende biologiche e convenzionali, in queste zone infatti le colture praticate sono in maggioranza le foraggere, che normalmente non richiedono l'uso di pesticidi.

Anche l'impiego di medicinali per il bestiame è molto contenuto nelle aziende biologiche rispetto alle convenzionali. Da tenere presente che tra le spese delle aziende biologiche sono comprese anche quelle per l'omeopatia e la fitoterapia, che coinvolgono un numero sempre maggiore di allevamenti. Nel 1995 la spesa sanitaria era di 49.000 per capo grosso nelle aziende biologiche e 97.000 in quelle convenzionali, quasi il doppio. Nel 1999 le aziende biologiche scendono a 42.000 e quelle convenzionali salgono a 166.000 per capo grosso, quattro volte superiore. Sembra quindi che il metodo biologico di produzione abbia influito positivamente sugli equilibri salutistici degli animali, grazie anche alla minore spinta produttiva con minore sfruttamento del bestiame.

I differenti consumi di concimi, presidi sanitari e medicinali confermano quindi le due differenti strategie di produzione e la coerenza da parte dei produttori biologici ai dettami della normativa.

#### 6.4 La produttività netta e la redditività

La differenza tra la Plv e le spese di reintegrazione ci porta al primo risultato della gestione aziendale, il prodotto netto, che rappresenta la ricchezza effettivamente prodotta dalle aziende e che servirà a remunerare i fattori della produzione.

Tenuto conto che nel corso del quinquennio i ricavi sono diminuiti, per la sfavorevole congiuntura del mercato lattiero-caseario, mentre le spese sono andate crescendo, seguendo il mercato dei mezzi produttivi che scaricano sul primario gli effetti dell'inflazione, ne consegue che il valore della ricchezza prodotta è andato scemando.

A lire correnti il calo è stato del 48% nelle aziende biologiche, che sono passate da 5,6 milioni di lire per ettaro SAU a 2,9 milioni di lire. Nelle aziende convenzionali il calo è stato ancora più elevato arrivando al 68%, il prodotto netto era infatti di 6,3 milioni di lire nel 1995 per scendere a 2,0 nel 1999.

Si tratta di risultati eccezionali in senso peggiorativo che dimostrano lo stato di precarietà delle aziende da latte in questo ultimo lustro di secolo. Il vantaggio del 1995 delle aziende convenzionali (+12%) sulle biologiche si è tradotto nel 1999 in un vantaggio delle aziende biologiche (+44%) nei confronti delle convenzionali, per effetto dei differenti ritmi di diminuzione del prodotto netto.

Esattamente uguale a quello riferito alla superficie è stato il calo del prodotto netto per unità lavoratrice (- 68%) nelle aziende convenzionali, mentre è stato più contenuto nelle aziende biologiche (-38%), grazie alle economie di scala che sono state praticate.

In ogni caso le aziende biologiche raggiungono risultati più soddisfacenti nella produttività netta per unità lavoratrice: si parte da 107,5 milioni di lire del 1995 (+13%) per arrivare a 66,5 nel 1999 (+115%). Ancora una volta le aziende biologiche si dimostrano più efficaci nella valorizzazione del lavoro umano.

Anche l'incidenza del prodotto netto sulla Plv è una ulteriore conferma del trend negativo per le aziende zootecniche in generale, ma in particolare per quelle convenzionali che passano dal 57% al 25% della Plv, mentre le biologiche partendo dal 62% limitano la discesa al 45%.

E' anche palese che le aziende di pianura e quelle più estese, in entrambi i gruppi, sono quelle con le migliori *performances*, confermando i vantaggi sottesi alle migliori condizioni ambientali e alla fertilità dei terreni, con le note economie di scala.

Per quanto riguarda la redditività dobbiamo tenere presente che le aziende biologiche sono improntate sul tipo d'impresa capitalistico-lavoratrice, mentre quelle convenzionali si basano sul lavoro familiare.

Precisato questo andiamo ad approfondire il grado di redditività delle aziende, che ci viene fornito dal risultato finale del bilancio. Nel loro complesso le aziende biologiche hanno realizzato un reddito netto per ettaro SAU di 4,1 milioni di lire nel 1995, che si è ridotto a 1,3 nel 1999 (-69%) a lire correnti. Le aziende convenzionali pur partendo avvantaggiate nel 1995, con 5,6 milioni di lire, si sono ritrovate nel 1999 con solo 1 milione di lire (-82%).

Con riferimento alle unità lavoratrici familiari, il reddito netto è sempre peggiorato nel quinquennio per entrambi i tipi d'azienda, ma in termini relativi le aziende biologiche si trovano meno penalizzate.

Già nel 1995 queste ultime realizzavano un reddito netto di 128,6 milioni di lire per unità lavoratrice familiare rispetto ai 94,8 delle convenzionali, con uno scarto del 36%; nel 1999 sono scese a 57 milioni di lire (-56%), ma le convenzionali sono andate ancora peggio con 18,5 milioni (-80%).

Se consideriamo anche l'effetto inflattivo, che nel periodo è stato del 9,3%, dobbiamo concludere che di reddito netto ne è rimasto veramente poco in mano all'imprenditore, lasciando trasparire una crisi profonda della zootecnia, che ha colpito maggiormente le aziende convenzionali rispetto a quelle biologiche.

Anche l'incidenza del reddito netto sulla Plv ne ha risentito: era del 46% nel 1995 per le aziende biologiche e del 51% per quelle convenzionali. Passando al 1999 le prime sono scese al 20% e le seconde a ben il 13%. Praticamente è rimasto ben poco per remunerare i fattori produttivi degli imprenditori, lasciando intendere che se la congiuntura sfavorevole per i formaggi grana non dovesse invertire la rotta, sarebbe a rischio la tenuta della zootecnia del territorio.

La crisi coinvolge tutte le aziende, anche se dobbiamo dire che quelle biologiche hanno avuto nelle economie di scala un effetto ammortizzatore, che si è aggiunto al numero inferiore di addetti familiari con i quali dividere la torta del reddito netto.

La congiuntura è stata ancora peggiore nelle aziende di montagna tenendo conto che i risultati sono frutto anche della media ottenuta da aziende con redditi negativi.

Se dal reddito netto vengono sottratti i compensi ai capitali, fondiario e agrario, otteniamo la remunerazione per il solo lavoro familiare. Le remunerazioni dei capitali sono state calcolate sulla base di investimenti alternativi e concorrenti.

I risultati ottenuti ci indicano che ad ogni addetto familiare a tempo pieno nel 1995 spettavano 112 milioni di lire nelle aziende biologiche e 82 milioni in quelle convenzionali (+36% per le biologiche). Dopo cinque anni la situazione peggiora per tutte le aziende, ma con minore intensità per quelle biologiche, con 31 milioni di lire, mentre le convenzionali hanno quasi azzerato il reddito di lavoro, meno di un milione di lire per familiare.

I rapporti non si modificano di molto con riferimento all'ora di lavoro. Si parte con 45 mila lire all'ora nelle aziende biologiche e 29 in quelle convenzionali nel 1995 (+55% per le biologiche), nel 1999 si scende a 12 mila lire nelle biologiche, mentre le convenzionali ottengono una remunerazione esigua.

Purtroppo l'evoluzione del quinquennio è stata negativa per tutte le aziende, perché partecipi della comune crisi dei formaggi grana. I risultati delle aziende biologiche sono stati i meno peggiori; la speranza è quella di recuperare più rapidamente i mancati redditi del periodo grazie ad aziende fortemente ristrutturate e all'auspicabile maggiore prezzo del formaggio biologico in corso di commercializzazione.

### *7. I redditi extra-aziendali*

Vengono in soccorso alla crisi del reddito aziendale le disponibilità di redditi extra-aziendali da parte delle famiglie, che possono così tamponare i rischi di tenuta dell'impresa. Tali entrate sono rappresentate dalle pensioni, dai compensi di lavoro dipendente ed autonomo che i familiari realizzano fuori dall'azienda e da altre riscossioni (affitto di rustici ecc.).

La loro entità poteva essere considerata modesta nel 1995 perché ammontava a 13 milioni di lire per addetto familiare in entrambe le tipologie aziendali: il 10% del reddito nelle biologiche e il 14% nelle convenzionali. Nel 1999 l'incidenza è più consistente nelle aziende biologiche, con il 19% del reddito netto per familiare, ed è stata determinante in quelle convenzionali, dove ha raggiunto il 96% del reddito netto. Le

pensioni incidono per un quarto sui redditi extra-aziendali nelle aziende biologiche e per oltre la metà nelle convenzionali.

La scarsa disponibilità di reddito aziendale ha fermato la corsa agli investimenti, soprattutto nelle aziende convenzionali, i redditi ottenuti consentono a malapena la sopravvivenza dell'azienda e della famiglia.

La resistenza delle aziende in questo periodo di crisi è possibile grazie all'effetto volano delle congiunture favorevoli fino al 1995-'96, oltre che ai redditi extra-aziendali. In ogni modo i risultati finali sanciscono una maggiore resistenza e tenuta delle aziende biologiche rispetto alle convenzionali.

### *8. Il costo di produzione del latte*

L'analisi del costo di produzione del latte completa e conclude i confronti sui risultati economici tra allevamenti da latte biologici e convenzionali.

Per la sua determinazione abbiamo ritenuta valida la teoria del Proni, secondo la quale il costo di produzione di un prodotto principale può essere correttamente determinato detrando dal costo totale i ricavi delle produzioni secondarie. Si ritiene infatti che per queste ultime il costo di produzione sia pari ai relativi ricavi, nell'ipotesi di profitto nullo.

Per la determinazione dei costi impliciti, o costi-reddito, ci siamo avvalsi dell'attribuzione dei compensi ai fattori produttivi forniti dall'imprenditore prendendo come riferimento le remunerazioni alternative e concorrenti. Sommando i costi espliciti del bilancio economico con i costi impliciti così calcolati abbiamo ottenuto il costo complessivo sostenuto dall'azienda. Per la determinazione del costo del latte abbiamo poi sottratto dal costo complessivo il costo per la produzione della carne e delle colture vegetali, secondo la citata teoria del Proni.

I risultati ottenuti ci indicano che mediamente un quintale di latte nel 1995 ha un costo di 93 mila lire nelle aziende biologiche e di 89 mila lire in quelle convenzionali (+4% per le biologiche).

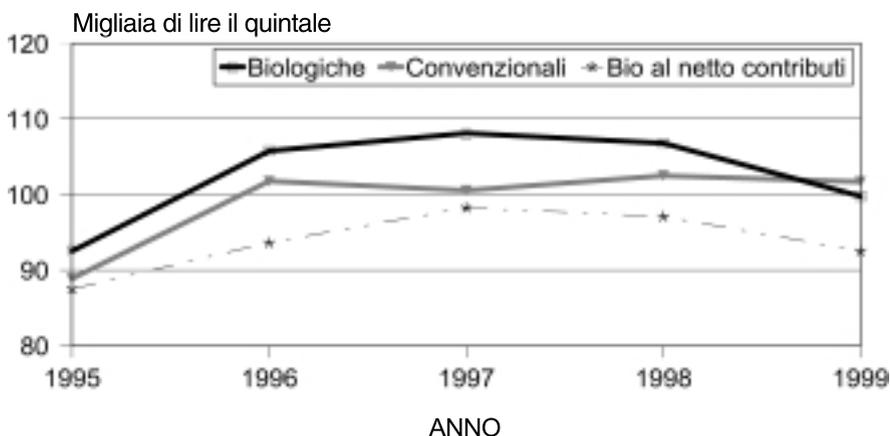
Negli anni successivi il costo di produzione è andato crescendo ma con una intensità inferiore nelle aziende biologiche che nel 1999 sono passate a 100 mila lire il quintale (+8%), mentre nelle convenzionali si è arrivati a 102 mila lire (+14%). Pertanto ci troviamo con un costo inferiore nelle aziende biologiche del 2%. Non è molto ma è significativo di una inversione di tendenza, anche se ancora da confermare.

Nelle annate intermedie il costo di produzione del latte nelle aziende biologiche si è sempre mantenuto più elevato. I vincoli produttivi che il Reg. 2092/91 impone ai produttori biologici rendono effettivamente più oneroso il processo produttivo. Le compensazioni previste dal Reg. 2078/92 contribuiscono a compensare il maggiore costo di produzione del latte.

Abbiamo infine quantificato gli effetti dei contributi all'agricoltura biologica sull'abbassamento del costo di produzione del latte ed è emerso che questi incidono dal 5 al 12% nel periodo.

Pertanto il costo di produzione del latte a carico delle aziende biologiche diventerebbe inferiore a quello sostenuto effettivamente dalle aziende convenzionali. Lo scarto andrebbe da un minimo di mille lire ad un massimo di 9 mila lire il quintale.

Graf. 10 - Costo di produzione del latte



In conclusione l'intervento pubblico a favore delle aziende biologiche contribuisce a renderle più competitive sul mercato e conveniente la conversione dalla zootecnia convenzionale a quella biologica.

In realtà i risultati potrebbero essere migliori per le aziende biologiche, e in effetti lo saranno nel momento in cui il formaggio biologico riuscirà a differenziarsi sul mercato con prezzi più remunerativi, che avranno una ricaduta positiva sul livello del prezzo di trasformazione del latte liquidato ai soci.

In questa prospettiva la zootecnia biologica del futuro potrà garantirsi una sua autonomia economica, indipendentemente dal sostegno finanziario pubblico che viene considerato a termine.

Pertanto le prospettive della zootecnia biologica sono legate al riconoscimento di prezzi più elevati per il formaggio biologico, in grado di compensare i maggiori costi e svincolare le imprese dai finanziamenti pubblici.

Il costo di produzione del latte non può essere disgiunto dalla conoscenza del prezzo realizzato dagli allevatori. Il latte viene trasformato in formaggio Parmigiano-Reggiano tramite i caseifici sociali, tranne due aziende che producono latte alimentare. Non necessariamente e non tutto il formaggio viene differenziato come biologico e non tutto quello biologico è pronto per la commercializzazione. L'analogia di prezzo del latte tra aziende biologiche e convenzionali ne è una conferma. Il formaggio biologico dei caseifici è entrato nella commercializzazione solo recentemente. Quello commercializzato ha preso in buona parte la via dell'esportazione, mentre il mercato interno è ancora tutto da conquistare.

Confrontando costo e prezzo riscontriamo condizioni particolarmente favorevoli nel 1995 per tutte le tipologie aziendali, con profitti positivi attorno al 30% sul prezzo del latte liquidato.

Negli anni successivi le congiunture sfavorevoli per i formaggi grana hanno avuto delle ricadute negative con la progressiva riduzione del prezzo del latte che nel 1999 è sceso sotto il costo di produzione di oltre il 20%, con profitti negativi per tutte le

tipologie aziendali. Se teniamo conto della contrazione del costo di produzione del latte in conseguenza dei contributi pubblici, per le aziende biologiche le perdite risultano più contenute, infatti il prezzo del latte è inferiore del 13% rispetto al costo di produzione nel 1999.

L'alternanza dei profitti è condizione diffusa in agricoltura, ma l'entità delle variazioni riscontrate in soli cinque anni è veramente un evento eccezionale, che rende sempre più difficili le analisi economiche e aleatori i confronti aziendali.

Mediando i prezzi del latte e i costi di produzione del quinquennio otteniamo che le aziende biologiche compensano i profitti positivi con quelli negativi, senza tenere conto dei contributi pubblici alle produzioni biologiche. Nelle aziende convenzionali non si è avuta compensazione e il costo del latte è superiore del 17% rispetto al prezzo, con una perdita secca nel periodo.

In conclusione, le aziende biologiche debbono affrontare costi superiori rispetto a quelle convenzionali con analoghi prezzi del latte, dal momento che la valorizzazione del prodotto biologico è ancora in itinere. In realtà i contributi pubblici alle aziende biologiche consentono di abbattere il costo di produzione del latte in modo da avvantaggiare le aziende biologiche rispetto a quelle convenzionali.

Se la valorizzazione del formaggio biologico andrà in porto, i risultati economici saranno ancora migliori e le aziende biologiche potranno camminare con le loro gambe nel prossimo futuro, quando i contributi pubblici verranno meno.

### *9. Alcune prospettive*

La presente ricerca è la continuazione dell'indagine condotta nel 1995, nell'ambito del progetto finalizzato RAISA del CNR, con la tenuta sotto controllo contabile, per 5 anni consecutivi, di un gruppo di 9 aziende biologiche da latte, sempre le stesse, per analizzare gli adattamenti strutturali e quantificare i risultati economici nel processo di sviluppo di medio periodo.

Contemporaneamente sono state tenute sotto controllo contabile anche 12 aziende da latte convenzionali per avere un termine di confronto di tipo dinamico dei due modi di produrre.

I risultati delle ricerche hanno fornito indicazioni particolarmente interessanti sulle modificazioni della zootecnia biologica, inoltre ci hanno consentito di cogliere alcuni elementi differenziali sulla zootecnia convenzionale, nonché gli orientamenti futuri.

Le strategie che caratterizzano le scelte imprenditoriali nell'agricoltura biologica hanno trovato conferma nelle nostre ricerche per quanto riguarda:

- la rinuncia ad una esasperata produttività;
- l'estensivazione delle colture e degli allevamenti, grazie anche alle maglie aziendali più estese;
- il risparmio delle risorse, con minore impiego di alcuni mezzi tecnici di origine mercantile (concimi, presidi sanitari, medicinali) e la valorizzazione delle produzioni aziendali.

Le aziende biologiche sono ancora sostenute da forti motivazioni ideali che oggi però sono accompagnate da crescenti motivazioni economiche, che sono quelle in grado di garantire la continuità d'impresa.

Dall'insieme di queste motivazioni troviamo le aziende biologiche particolarmente impegnate nell'allargamento della maglia aziendale e nella dimensione delle mandrie.

Già in partenza le aziende biologiche si presentavano di medie e grosse dimensioni e nel corso del quinquennio hanno continuato a proseguire nel processo di sviluppo, dando un notevole contributo all'innovazione in agricoltura, nella fondata speranza di future prospettive economiche. Alla dinamica delle aziende biologiche ha fatto riscontro la rigidità delle aziende convenzionali, che sembrano ripiegarsi su sé stesse, anche a causa delle congiunture mercantili sfavorevoli per il comparto lattiero-caseario, che per altro ha colpito tutte le aziende.

Pertanto le aziende biologiche hanno acquisito nuova terra (+41%), hanno allargato la dimensione della mandria (+46%), hanno fatto ricorso ad un ulteriore apporto di addetti (+18%). A livello strutturale i risultati di questa manovra imprenditoriale hanno portato:

- un maggiore grado di attività (da 19 ettari per addetto si è passati a 23 ettari);
- una ulteriore estensivazione dell'allevamento bovino (da 1,7 capi grossi per ettaro foraggero si è scesi a 1,6);
- una diminuzione dei capitali investiti per unità lavoratrice e ad una stabilità per unità di superficie;
- un allargamento del fabbisogno finanziario con la crescita del capitale di anticipazione, soprattutto legato ai costi per i nuovi salariati;
- un ulteriore impegno nell'autoapprovvigionamento foraggero aziendale con l'espansione delle superfici foraggere.

Nello stesso periodo le aziende convenzionali hanno mantenuto costante i fattori terra e lavoro mentre hanno potenziato l'intensità agraria in vista di una ulteriore intensificazione produttiva.

La fiducia nelle prospettive future traspare più chiaramente nelle aziende biologiche che, nonostante la crisi mercantile del comparto lattiero-caseario, guardano con fiducia ai futuri traguardi, predisponendo le strutture necessarie allo sviluppo mercantile dell'azienda, nel rispetto degli obiettivi di un'agricoltura a minor impatto ambientale. I risultati economici hanno dimostrato una migliore tenuta da parte delle aziende biologiche nel periodo.

Ad una più contenuta intensità produttiva per ettaro si è contrapposta una maggiore produttività del lavoro, grazie al più elevato grado di attività delle aziende biologiche.

L'intensità produttiva del bestiame continua ad essere più contenuta nelle aziende biologiche. Ciò nonostante la produzione di latte per allevamento continua a crescere per l'ampliamento delle mandrie, secondo il principio delle economie di scala.

Il minor ricorso al mercato dei mezzi produttivi da parte delle aziende biologiche è sottolineato dalla minore incidenza delle spese di reintegrazione sulla Plv rispetto alle aziende convenzionali, queste ultime infatti ricorrono maggiormente al mercato dei mezzi produttivi per sostenere la produttività.

I consumi che differenziano maggiormente le produzioni biologiche da quelle convenzionali sono quelli per concimi, presidi sanitari e medicinali, che confermano le peculiarità dei due modi di produrre. Tali spese sono molto più contenute nelle aziende biologiche rispetto alle aziende convenzionali, in coerenza con le normative biologiche che ne limitano l'impiego.

La redditività degli allevamenti è stata penalizzata per tutte le tipologie aziendali, a motivo delle congiunture mercantili sfavorevoli per i formaggi grana. In realtà l'effetto è stato più accentuato per le aziende convenzionali, tanto che da una posizione iniziale di maggiore redditività per ettaro SAU nel 1995 sono passate ad una situazione di minore redditività nel 1999 rispetto alle aziende biologiche.

Si mantengono invece sempre avvantaggiate le aziende biologiche per quanto riguarda la redditività per unità lavoratrice familiare. I valori sono in discesa per tutte le aziende in termini assoluti, mentre in termini percentuali il calo di redditività per addetto familiare è stato più accentuato nelle aziende convenzionali, facendo emergere ulteriormente il vantaggio relativo di quelle biologiche.

Il costo di produzione del latte si mantiene mediamente più elevato nelle aziende biologiche, come era prevedibile, ma la differenza non è elevata perché si aggira mediamente sul 4% in più nel quinquennio rispetto alle aziende convenzionali.

Le aziende biologiche possono compensare questo handicap grazie ai contributi concessi alle produzioni biologiche. Infatti tali contributi ridurrebbero il costo di produzione del latte a livelli inferiori al costo di produzione ottenuto dalle aziende convenzionali e porrebbe le aziende biologiche in condizioni di vantaggio per tutto il periodo.

Tenuto conto che il prezzo realizzato per il latte è pressoché analogo nelle due tipologie aziendali, perché quasi tutte le aziende destinano il latte alla trasformazione in formaggio Parmigiano-Reggiano, ne consegue che, grazie ai contributi pubblici, i risultati economici delle aziende biologiche sono migliori di quelli realizzati dalle aziende convenzionali in tutto il periodo, con una migliore competitività.

In prospettiva il vantaggio per le aziende biologiche si dovrebbe consolidare in conseguenza della commercializzazione del formaggio come biologico. In primo luogo dobbiamo rilevare che ancora oggi una parte del latte biologico non viene differenziato dall'altro latte e non può quindi godere di una differenziazione di prezzo. In secondo luogo i benefici della trasformazione del latte biologico in formaggio biologico, con un maggiore riconoscimento di prezzo, stanno per arrivare alla meta, perché i processi produttivo e di trasformazione del latte e quello di stagionatura del formaggio richiedono alcuni anni e la conclusione del ciclo è recente, mentre i benefici saranno rilevabili nei prossimi bilanci delle aziende biologiche.

Le prospettive future delle aziende biologiche con produzione di latte per Parmigiano-Reggiano potranno essere positive in funzione del differenziale di prezzo tra formaggio biologico e convenzionale che saranno in grado di realizzare.

Con i finanziamenti pubblici a termine, per l'agricoltura biologica i maggiori costi di produzione dovranno trovare compensazione in un riconoscimento di prezzo più elevato per i prodotti biologici, prezzo che dovrà essere in grado di compensare almeno i maggiori costi, con l'auspicio di andare oltre.

**Parole chiave:** Zootecnia biologica, latte, economia

**Key words:** Organic zootechny, dairy, economy

**Mots-clés:** Production animale biologique, lait, économie

**RIASSUNTO** – All'approvazione della normativa europea sulle produzioni biologiche vegetali del 1992 ha fatto seguito nel 1999 quella sulle produzioni biologiche di origine animale.

Questo ritardo ha avuto ripercussioni negative sulla diffusione del metodo biologico in zootecnia. Infatti nel 2000 la consistenza delle aziende zootecniche biologiche in Italia è solamente il 3% di tutte le aziende biologiche.

Ciò nonostante le prospettive per la zootecnia biologica sembrano migliorare, grazie anche alla crescente propensione dei consumatori all'acquisto di prodotti più salubri e di qualità, dopo le note vicende degli scandali alimentari e recentemente della Bse.

La presente ricerca si cala in questa realtà in rapida evoluzione per approfondire le conoscenze sulle aziende zootecniche biologiche con bovini da latte nel loro divenire nell'ultimo quinquennio, in rapporto alle aziende convenzionali.

I risultati hanno confermato la particolare dinamicità delle aziende biologiche, a fronte di una staticità delle aziende convenzionali. A livello strutturale le aziende biologiche sono caratterizzate da dimensioni più estese in termini di superfici produttive e di mandrie allevate, con ulteriori ampliamenti nel periodo, in coerenza con l'obiettivo di raggiungere migliori economie di scala.

A livello economico le aziende biologiche hanno dimostrato di essere in grado di competere con le aziende convenzionali, grazie anche al sostegno finanziario pubblico all'agrobiologia. Nonostante le congiunture sfavorevoli del comparto lattiero-caseario nel periodo in esame, le aziende biologiche hanno adottato delle strategie di sviluppo che hanno consentito di realizzare le migliori performances. La prospettiva per le aziende zootecniche biologiche è quella di poter ottenere nel prossimo futuro ulteriori benefici economici per il loro impegno negli investimenti, nella salvaguardia degli equilibri ambientali.

#### **SUMMARY** – *Comparative analysis of five years of organic zootechny.*

The ratification of European standards regarding organic vegetable-based production in 1992 was followed in 1999 by that pertaining to organic animal-based production.

This delay resulted in negative repercussions in the spread of organic methods in zootechny. In fact, as of 2000, the number of organic zootechny farms in Italy represented only 3% of all organic farms.

Despite this, the outlook for organic zootechny seems to be improving, in part the result of a growing consumer propensity to purchase healthier, quality products following a series of food scandals and the recent BSE-related events.

This study examines this rapidly-evolving situation in order to further knowledge about organic zootechny dairy farms and their development over the last five-year period in relation to traditional farms.

The findings confirmed that, compared with the more static situation in traditional farms, organic farms were more active. On a structural level, organic farms were larger in terms of productive area and herd size with continued expansion during the period under study as part of their goal to improve economies of scale.

On an economic level, organic farms proved themselves capable of competing with traditional farms, in part the result of state financing for agrobiology. Despite the unfavourable trends in the dairy product sector during this period, organic farms adopted growth strategies that made it possible to improve performance. The outlook for organic zootechny farms is that of reaping further economic benefits in the short-term from their investments, while safeguarding environmental equilibrium.

## **RÉSUMÉ** – *Compte-rendu de cinq ans de production animale biologique*

L'approbation de la norme européenne sur les productions biologiques végétales remonte à 1992, tandis que, pour la norme concernant les productions biologiques d'origine animale, il a fallu attendre jusque 1999.

Ce retard a eu des répercussions négatives sur la diffusion de la méthode biologique en production animale. En effet, en 2000, le nombre d'exploitations d'élevage biologiques en Italie représente seulement 3% des exploitations biologiques.

Malgré cela, les perspectives pour la production animale biologique semblent s'améliorer, grâce également à la propension croissante des consommateurs à l'achat de produits plus sains et de qualité, après les événements relatifs aux scandales alimentaires et, récemment, à l'ESB.

Cette recherche veut enquêter sur cette réalité en rapide évolution pour approfondir les connaissances sur le développement des exploitations d'élevage biologiques avec bovins laitiers au cours des cinq dernières années par rapport à celui des entreprises traditionnelles.

Les résultats ont confirmé le dynamisme spécifique des entreprises biologiques face au statisme des entreprises traditionnelles. Au niveau structurel, les exploitations biologiques sont caractérisées par des dimensions plus importantes en termes de surfaces de production et de troupeaux élevés, avec de nouvelles augmentations dans la période considérée, en cohérence avec l'objectif d'atteindre de meilleures économies d'échelle.

Au niveau économique, les exploitations biologiques ont démontré qu'elles sont concurrentielles par rapport aux exploitations traditionnelles, grâce également au soutien financier public en faveur de l'agriculture biologique. Malgré les conjonctures défavorables du secteur laitier-fromager au cours de la période considérée, les exploitations biologiques ont adopté des stratégies de développement qui leur ont permis de réaliser des performances optimales. Pour les exploitations d'élevage biologiques, la perspective future est d'obtenir à court terme davantage de bénéfices économiques pour leur engagement dans les investissements et dans la sauvegarde des équilibres environnementaux.

### *Bibliografia*

- 1) ANSALONI F., SALGHETTI A. (1996) "Latte biologico e derivati: l'organizzazione della filiera", in *Economia Agro-Alimentare*, Anno I, n. 1.
- 2) ANSALONI F., MERLO M., RIVAROLI S., SARTI D. (2000) "Strategie di sviluppo di aziende bovine da latte: casi di studio dell'Appennino bolognese e del Cansiglio". In *Atti del XXXVII Convegno di Studi SIDEA*, Bologna.
- 3) AA. VV. (2002) "Tutto Bio 2002", Ed. Distilleria, Ecoeditoria, Forlì.
- 4) CHIORRI M., SANTUCCI F.M. (2001) "Aziende biologiche e convenzionali in Umbria: analisi comparativa pluriennale". Relazione presentata al XXVIII Convegno SIDEA di Catania.
- 5) BERNI P., FABBRIS (1996) "L'agricoltura biologica nel Veneto: aspetti economico-sociali e comportamenti d'impresa" (a cura di), Istituto di Economia e Politica

Agraria, Università di Verona, pubblicazione RAISA-CNR n. 2423, Arcadia Editore, Modena.

6) BONAZZI G. (1998) "Agricoltura biologica: alcuni elementi di riferimento", in *L'Avvenire Agricolo*, Anno 106, n. 6.

7) COMMISSION DES COMMUNAUTES EUROPEENNES (1989) "Bilan des connaissances et des applications de l'agriculture biologique et intérêt pour l'agriculture communautaire. Situation des pays de la CEE", Voll. I e II, Luxembourg.

8) GIOVANNINI E. (1994) "Quanto costa produrre latte biologico", in *Bioagricoltura*, n. 31

9) GREGORI M., PRESTAMBURGO M. (1996) "Produzioni biologiche ed adattamenti d'impresa", F. Angeli, Milano.

10) MESSORI F. (1999) "Aspetti economici dell'agricoltura biologica nella provincia di Reggio Emilia. Un'analisi di Filiera" (a cura di) Dip. di Protezione e Valorizzazione Agroalimentare dell'Università di Bologna.

11) MONTANARI E. (1995) "Il cammino dell'agricoltura biologica in Italia", In *Atti del Convegno "Stato attuale e prospettive delle produzioni alimentari biologiche in Italia"*, in *Parma Economica*, n. 4, C.C.I.A.A. di Parma.

12) PRONI G. (1940) "Contributo allo studio del costo di produzione in agricoltura", INEA, Roma.

13) ROMANO M. (1989) "Agricoltura biologica e convenzionale a confronto", in *Demetra*, n. 11.

14) SALGHETTI A., RIVA B. (1996) "L'agricoltura convenzionale della provincia di Parma si confronta con quella biologica: un'analisi del biennio 1993/94", in *Parma Economica*, n. 1, C.C.I.A.A. di Parma.

15) SALGHETTI A. (1997) "Produzioni biologiche e convenzionali negli allevamenti bovini", CNR-RAISA, Università degli Studi di Parma, Istituto di Economia Rurale e Zooeconomia.

16) SANTUCCI F.M. (1994) "Confronto tra aziende biologiche e convenzionali in Umbria", in *Bioagricoltura* n. 31.

17) ZANOLI R. (1997) "L'agricoltura biologica", in *Annuario dell'Agricoltura Italiana*, INEA, Roma.

## CHARACTERISTICS OF HORSE MEAT CONSUMPTION AND PRODUCTION IN ITALY

F. Martuzzi, A.L. Catalano, C. Sussi.<sup>1</sup>

### *Introduction*

In Italy at present the consumption of products of animal origin is 10 times higher than fifty years ago. Meat consumption *pro capite* is about 82 kg/year. BSE occurrence in the nineties caused a reduction of 20% of bovine meat demand; the trend in the last years shows a general reduction of this kind of consumption. National production however cannot satisfy the needs, and more than half of the meat supply comes from importation (ISTAT 2001).

In Italy horse meat consumption is the highest among all European Community countries.

Aim of this study was to investigate horse meat consumption characteristics in Italy, in particular if the BSE occurrence affected consumer's behaviour towards this kind of meat, and which is at present the production situation.

### *Horse meat consumption in Italy*

Horse meat consumption in Italy is widespread since ancient times. In the past however this kind of food was not always considered suitable for human nutrition: *e.g.* in the 8<sup>th</sup> century Pope Gregorio III defined "abominable" consuming horse meat and "unclean" the people eating it (Badiani and Manfredini, 1994).

Since 1928, Italian legislation didn't allow to sell horse meat together with other meats in the same stores. Only in the 1999 the law 526, in 12<sup>th</sup> paragraph, provided the abolition of this prohibition allowing selling this kind of meat in the markets, even if in separated counters. Probably, this prohibition was depending on the fact that in the past, when horses were employed in agriculture, most equine meat was coming from working horses at the career's end, in prevalence aged and in bad health conditions, and the conservation systems were not yet adequately developed. Breeding exclusively for meat production is in Italy a relatively recent employment of this species.

In the 15 European Community Countries average individual horse meat consumption is 0.4 kg/year (Martin-Rosset, 2001), while in Italy, which is the Country with the highest consumption, it is about 1.3 kg/inhabitant/year, representing 1.6% of the total individual meat consumption per year (82 kg) in Italy (ISTAT 2001).

---

<sup>1</sup> Dip. PABVQSA Sez. Scienze Zootecniche e Qualità delle Produzioni Animali, Università degli Studi di Parma, via del Taglio 8, I-43100 Parma, Italy.

The parameter “average consumption *pro capite*” is however not representative of the situation, because a large part of the population never eats this aliment, due to the feeling of a sort of “cannibalism” towards an animal beloved as a pet or a sport companion. In an IRVAM survey made in Italy in 1989, 56% of the interviewed families declared to never eat horse meat, while 11% of them affirmed to be regular consumers (“at least once a week”) (Badiani and Manfredini, 1994).

### **Trend and distribution of horse meat demand in Italy**

#### *Trend in years*

In the last years the trend of the slaughtered horses was clearly decreasing (Table 1); but with the occurrence of BSE in cattle, that reduced considerably beef consumption in Italy, in 1999 the number of slaughtered horses started to increase, due to the interest of the consumers toward different kinds of meat.

Table 1: Slaughtered horses in the last 5 years

<b>Year</b>	<b>Slaughtered head</b>	<b>Comparison with previous year (%)</b>
<b>1995</b>	260522	-2.9
<b>1996</b>	247593	-5.0
<b>1997</b>	240044	-3.1
<b>1998</b>	226842	-5.5
<b>1999</b>	227152	+0.1
<b>2000</b>	234904	+3.3
<b>2001</b> (9 months)	212644	+25.7

Source: ISTAT 1995-2000

This tendency continued in 2001 as well: in the first 9 months there was an increasing in slaughtering of more than 25% in comparison with the same period of the previous year.

This tendency seems confirmed by the figures of the tons of importation meat as well (Table 2): comparing the meat imported every month in 2001 with the amount imported in the same month in 2000, it can be observed that there was an increase of imported equine meat in 2001, on average about 38% higher than in the same months of 2000; pork and mutton importation increased as well, but less relevantly: 13% and 22%, respectively. As regards pork the increase was observed only in January and February, afterwards a reversal of trend occurred. In the same period beef import was on average 42% lower (ISTAT 2001).

It has to be observed, however, that the imported quantities of the considered kinds of meat are very different from each other, *e.g.* equine meat is on average 2.4% of total imported meat, while pork represents 74.2%.

Table 2: Importation of several kinds of meat in from January to August 2001, compared to the same period in 2000

	tons	difference 2001/2000
beef	162102	-42.1
pork	535602	+13.5
mutton	20976	+21.8
equine meat	15944	+37.8

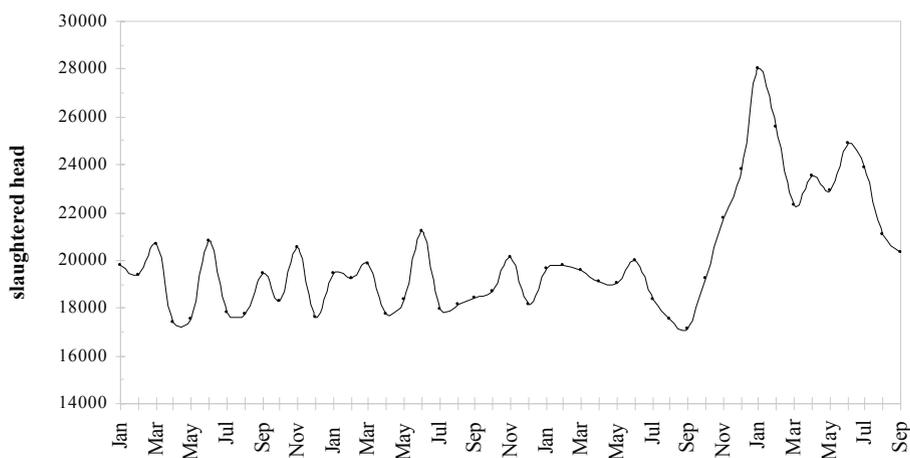
Source: ISTAT 2001

### Seasonal trend

Horse meat is not consumed evenly during the year: usually an increase of the offer appears in November, due to the great number of foals led to slaughtering in this period, inducing therefore a lowering of the prices and an increase of the consumption. These foals, prevalently of local breeds, descend from the mountain pastures where they stayed in summer suckling the mares (Figure 1). The peak of the number of slaughtered horses, observed in the last months of 2000 and in the first of 2001, is most likely due to the great worry of the consumers for the BSE crisis that was observed in that period (De Roest *et al.*, 2001).

In summer horse meat consumption is usually lower than in the other seasons, maybe due to a lesser availability of the product (Manfredini and Badiani 1993; Badiani and Manfredini, 1994).

Figure 1: Seasonal trend of the slaughtered horses (years 1998-2001)



Source: ISTAT 1998-2001

A reduction in meat consumption during summertime is observed for other kinds of meat as well (Figure 2). As regards pork and mutton consumption's trend in Italy, the peaks appear clearly in correspondence of the festivities (Easter, Christmas) (ISTAT, 2001).

#### *Distribution of the consumption in the national territory*

Horse meat consumption is distributed unevenly in the national territory: in some regions this kind of food is more appreciated than in others (Figure 3); the largest percentage of horses slaughtered for meat production is observed in Puglia in Southern Italy (32%), followed by Lombardia (14%), Piemonte (11%) and Emilia Romagna (9%) in Northern Italy. In the rest of Italy the remaining 34% is distributed; this disposition seems to remain constant in time (Catalano, 1978; Catalano and De Stefano, 1983; ISTAT, 2000), and it seems depending more on cultural and traditional factors than on the availability of equines in the territory; *i.e.* in Tuscany, where many stud farms are present, the habit of equine meat eating is completely absent.

#### **Horse meat production in Italy**

In Italy there are about 350.000 horses. Equine meat production however is not sufficient to meet the national demand, which is satisfied by import, mainly from Extra European Community Countries: in the nineties, 80% of the horses imported for slaughtering was coming from Poland (Badiani and Manfredini, 1994; Segato *et al.*, 1999). Importation regards live animals and fresh or frozen meats as well (ISTAT, 2001). It was estimated that about 80% of the internal demand of horse meat is cov-

Figure 3: Italian regions with higher horse meat consumption

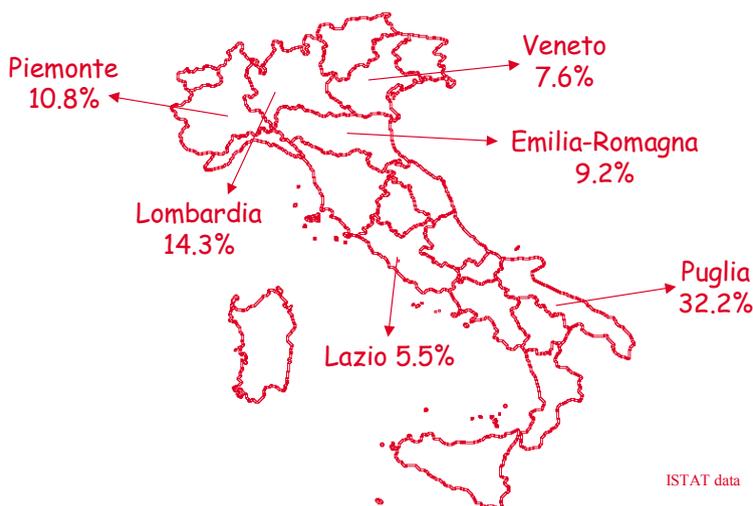
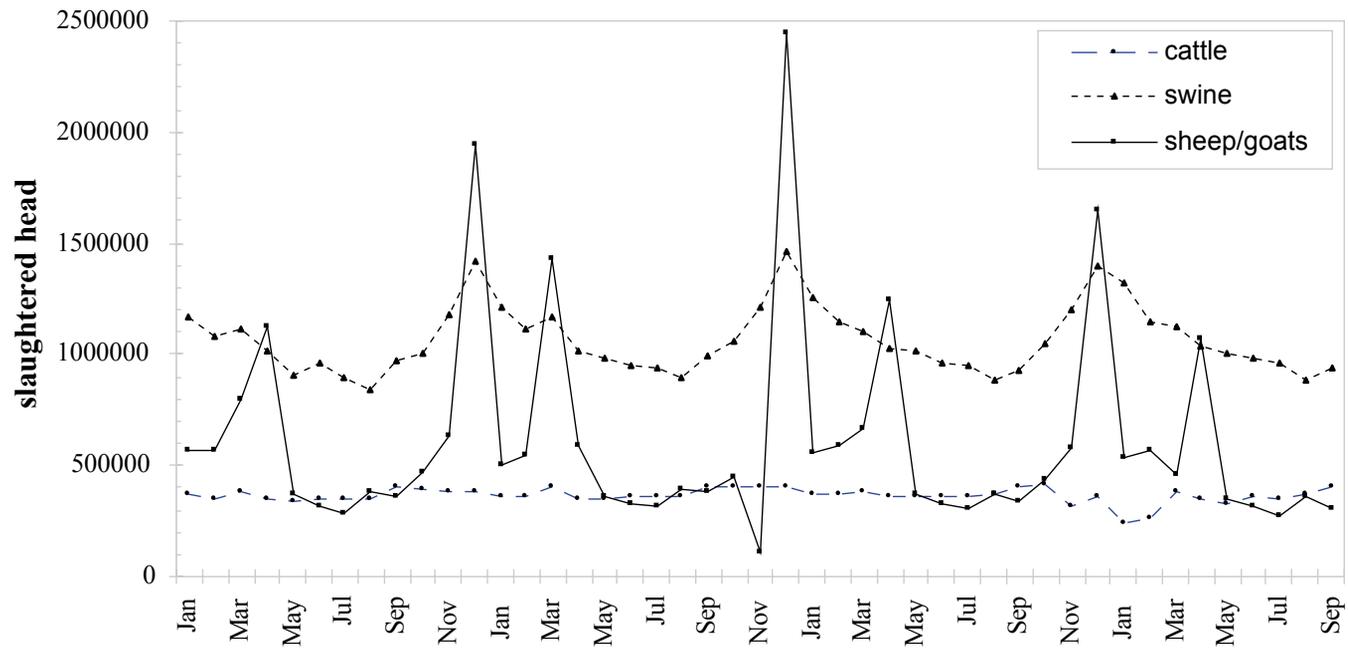


Figure 2: Seasonal slaughtering trend of other species (years 1998-2001)



Source: ISTAT 1998-2001

ered by importation (Badiani *et al.*, 1993; Catalano and De Stefano, 1983). The percentage of national meat demand satisfied by import or by internal production is at present difficult to assess, many animals being slaughtered clandestinely. On the other hand many horses imported for slaughtering are kept alive and employed mainly for saddle service.

Breeding horses exclusively for meat production was generally considered not very convenient by Italian breeders, due to several reasons:

in Italy wide grasslands for extensive husbandry are scarce, so most horses are relegated in the mountain or “marginal” areas, where heavy breeds cannot be reared, so often local breeds with light body weight and therefore low meat production are employed;

imported horses have prices so low, that for Italian breeders generally it is impossible to compete, due to the national production costs.

This was the situation before BSE occurrence that altered deeply the meat market, determining a rise of the prices of all “alternative meats”: equine steak price, *e. g.*, rose from 9 to 16 euro/kg; foal fillet from 12 to 23 euro/kg; prices of horses for slaughtering doubled, from 1 to 2 euro/kg. In the meanwhile, horses stealing increased as well: in Central Italy a trebling of horse thefts was observed (personal communications).

#### *Horse breeds for meat production in Italy*

Most horse meat of Italian provenience comes from cast race or saddle horses, at the end of the career or slaughtered for health problems. There are farms for equine meat production, but until few years ago there were no breeds exclusively selected for this purpose. A large contribute to the national production was given mainly by local, ancient equine populations, not specialised, but very resistant to parasites and difficult environmental conditions, to which they are suited since centuries, like *e. g.* the Bardigiano and Tolfetano populations (Catalano, 1976, 1978; Catalano *et al.*, 1983; Catalano and De Stefano, 1983). Usually the mares foal in April and then are kept grazing, receiving no integration, until October-November when the foals are sold for slaughtering; usually these animals weight about 250-300 kg; if there is the possibility of housing, or the foal body conditions are poor, or the market prices are considered not satisfactory by the breeder, these animals can be weaned and fattened until 10-15 months of age (Catalano and Quarantelli, 1979; Catalano, 1982).

*Cavallo Agricolo Italiano da Tiro Pesante Rapido*. The C.A.I.T.P.R. is the only Italian heavy breed (live weight 700-900 kg). Once bred for heavy draught and work in agriculture, now it is employed for meat production and draught competitions. Estimated population is about 6500 animals, of which 4500 are recorded in the Stud Book. It is bred in prevalence in the Po valley plain, origin area of this breed, and in specialised farms in Central Italy.

*Haflinger*. The Haflinger is one of the most widespread breeds in Europe; in Italy it was once employed for agriculture works in the Alps; at present it is bred in the whole national territory, employed mostly for leisure riding and carriage pulling.

Estimated population is 13000 animals; 5500 are recorded in the Stud Book (A.I.A., 2000).

*Bardigiano.* The Bardigiano Horse is an ancient breed of the Northern Italy Apennine; its diffusion is limited to a few provinces. Now the selection programme aims to a horse lighter and taller than the traditional type, once bred for work, in order to obtain a horse for leisure riding and light carriage pulling, being meat production not sufficient to cover the costs sustained by the breeders. Estimated population is 3500 animals; 1500 of them are registered in the Stud Book (Catalano *et al.*, 1983; Catalano and Martuzzi, 1985; Catalano *et al.*, 2001).

*Franches Montagnes.* The Franches Montagnes breed, of Swiss origin, is now widespread in whole national territory. Estimated population is 3000 animals, 2500 are registered in the Stud Book. (Italian Franches Montagnes Breeders Association, personal communication, 2001).

*Other local breeds.* Cavallo del Catria: 400 mares (Catalano and Martuzzi, 1986; personal communication, 2001) Tolfetano: 850 mares (A.I.A., 2000); Murgese: 800 mares (A.I.A., 2000).

#### *Characteristics of horse carcasses and meat in Italy*

Due to the different horses origins, breeds and husbandry systems mentioned before, there is great variability among the equine carcasses and meats consumed in Italy. In table 3 several Italian researches are compared with French studies. A comparison with the results of these researches is difficult, because the animals are of different ages and breeds. Moreover while in all considered studies the dressing percentage was calculated as hot carcass weight/ body weight, in the studies of Lacheretz *et al.* and Campodoni *et al.* the dressing percentage was calculated in the first case as hot carcass weight/body weight, and in the second as hot carcass weight/empty body weight: in this case the dressing percentage results higher, being “empty body weight” lighter than “body weight”.

According to several surveys, carried out in Italy, the meat coming from sport horses seems more appreciated by consumers, due to the more intense colour, subtler muscular fibres, lower fat content than the meat from heavy breeds; differently from other species, organoleptic characteristics of the meat from aged horses are the same as those from 30 months old animals (Catalano *et al.*, 1986; Manfredini and Badiani, 1993).

A good deal of surveys about this matter was carried out in the seventies and in the eighties. At present in Italy no more many studies regarding horse meat characteristics are carried out (Segato *et al.*, 1999).

In Italy horse meat is presented in many ways, as sausage or smoked, steak and several other preparations, that differ from zone to zone; in the Parma province there is the tradition to eat it uncooked and minced (“pesto”); in part of the Emilia region a “donkey stew” (“stufato di asinina”) is very appreciated, that is actually made with horse cheeks (masseters).

Table 3: Characteristics of horse carcasses

Reference	n.	Age <sup>(1)</sup>	Breed or type	Live weight (kg)	Dressing percentage HCW/BW <sup>(2)</sup>	Muscle (%)	Fat (%)	Bone (%)
<b>Martin-Rosset <i>et al.</i>, 1980</b>	13	6m	Heavy French breeds	327	59.6	68.3	9.6	17.5
	20	12m	Heavy French breeds	483	64.9	70.1	10.9	15.6
	20	18m	Heavy French breeds	573	57.4	71.8	9.4	16.1
	20	24m	Heavy French breeds	627	61.0	69.8	12.9	14.9
	15	30m	Heavy French breeds	735	60.0	69.0	14.2	14.5
<b>Catalano <i>et al.</i>, 1986</b>	19	~6m	Franches Montagnes, Haflinger, Bardigiana and crossbreeds	226.4	60.0	72.4	9.7	17.7
	20	~15m	"	280.0	59.1	67.7	9.5	16.1
	20	A	Sport and draught-horse	514.0	60.0	69.1	13.4	14.2
<b>Lacheretz <i>et al.</i>, 1990</b>	37	6-10m	Heavy French breeds	406.4	62.0 <sup>(3)</sup>	69.3		
<b>Manfredini <i>et al.</i>, 1992</b>	10	~12m	Haflinger	325.3	63.3			
	10	~12m	Croatian population	346	61.6			
	10	A	Croatian population	462.6	59.8			
	10	A	Saddle-horse	470.0	60.9			
<b>Badiani <i>et al.</i>, 1993</b>	8	4-7m	Franches Montagnes	278.1	61.67			
<b>Campononi <i>et al.</i>, 1993</b>	10	~8m	Derived Franches Montagnes	310	68.2 <sup>(4)</sup>	63.68	16.43	15.74

(1) m = months, A = adult

(2) HCW /BW: hot carcass weight/ body weight

(3) CCW/BW: cold carcass weight/body weight

(4) HCW/EBW: hot carcass weight/empty body weight

### Conclusions

BSE occurrence seems to have affected significantly consumers' choices in Italy, addressing them toward meats other than bovine; in particular horse meat consumption increased and the prices paid by consumers in 2001 are from 30 to 50% higher than in 2000. National production is not sufficient to cover the needs since long time, and the internal demand is satisfied by import, mainly from East Europe Countries. Importation of equine meat in 2001 increased, resulting on average 45% higher than in the same months of 2000.

Considering the particular orographic situation of the Italian territory, the horse meat market conditions and the high demand for living animals, that determines the importation of a large amount of riding horses and ponies as well, a way to increase horse meat production in Italy and to decrease import high expenses, could be encouraging and supporting the production of sport horses, for saddle service or carriage pulling. These horses, with an employment and economical value when alive, will become anyway meat producers when their career comes to an end.

**Keywords:** horse, meat consumption, meat production

**SUMMARY** - In Italy equine meat consumption has always had a certain importance. Average annual horse meat consumption is about 1.3 kg *pro capite*, representing 1.6% of the total meat amount consumed in one year (82 kg/head). Anyway almost half of the Italian population never eats this kind of meat. Recently there was a considerable increasing of horse meat consumption due to BSE occurrence in bovines. National production is not sufficient to meet market requirements. Most horses for meat production are imported from Eastern European Countries. Horse breeding for meat production is generally considered by breeders not convenient for two main reasons: in Italy wide pasture lands for extensive breeding are lacking, and the prices of horses imported from the Countries where these pastures exist are very low. Most meat of Italian provenience comes from sport horses slaughtered at career's end, or from foals of local breeds returning in fall from mountain pastures.

**RIASSUNTO** - Il consumo di carne equina ha sempre rivestito una certa importanza in Italia. Il consumo medio annuo *pro capite* di carne di cavallo è di circa 1.3 kg, che rappresenta l'1.6% della quantità totale di carne consumata in un anno (82 kg/ a testa). Tuttavia quasi metà della popolazione italiana non si ciba mai di questo tipo di carne. Recentemente si è verificato un considerevole incremento del consumo a causa dell'insorgenza della BSE nei bovini. La produzione nazionale non è sufficiente per coprire le richieste del mercato; la maggior parte dei cavalli importati per la produzione della carne proviene da Paesi dell'Europa dell'Est. L'allevamento del cavallo per la produzione della carne è generalmente considerato degli allevatori non conveniente per due ragioni principali: in Italia mancano ampie superfici pascolative per l'allevamento estensivo, ed i prezzi dei cavalli importati dai Paesi dove questi pascoli esistono sono molto bassi. La maggior parte della carne di provenienza italiana viene da cavalli sportivi macellati a fine carriera, o da puledri di razze locali che tornano in autunno dai pascoli montani.

### *References*

Associazione Italiana Allevatori (editor) (2000) - Popolazioni equine riconducibili a gruppi etnici locali. A.I.A., Roma, 22pp.

A. Badiani, M. Manfredini (1994) - La produzione della carne di cavallo. Zoot. Nutr. Anim 20, (suppl.): 5-43.

A. Badiani, M. Manfredini, N. Nanni (1993) - Qualità della carcassa e della carne di puledri lattoni. Zoot. Nutr. Anim. 19 (1): 23-31.

- G. Campodoni, G. Preziuso, D. Gatta, B. Colombani, M. Orlandi (1994) - Rilievi in vita e al macello e qualità della carne in puledri derivati Franches Montagnes. *Zoot. Nutr. Anim.* 20: 35-44.
- A.L. Catalano (1976) - L'allevamento equino per la produzione della carne. Situazione attuale e prospettive in Italia. *L'Italia Agricola* 113 (6): 34-49.
- A.L. Catalano (1978) - Allevamento del cavallo per la valorizzazione dei terreni marginali e dei pascoli montani. *Zootec. Nutr. Anim.* 4 (5-6): 449-455.
- A.L. Catalano (1982) - Prove di produzione di puledroni da carne con diete contenenti insilato di mais (nota preliminare). *Zootec. Nutr. Anim.* 8 (5): 499-508.
- A.L. Catalano, C. De Stefano (1983) - Situazione attuale, indirizzi produttivi e problemi dell'allevamento del cavallo per la produzione della carne. *Ob. Docum.Veter.* 4 (11): 23-33.
- A.L. Catalano, G. Gonzi, A. Marusi (1983) - Il Cavallo Bardigiano. Origini, evoluzione e nozioni di ippicoltura ad uso degli allevatori. Associazione Nazionale Allevatori del Cavallo Bardigiano (editor) Novastampa Verona, Italy, 69pp.
- A.L. Catalano, F. Martuzzi (1985) - L'allevamento del cavallo in provincia di Parma. *L'Avvenire Agricolo* 93 (1): 1-9.
- A.L. Catalano, F. Martuzzi (1986) - Cavallo del Catria, dal Registro Anagrafico al Libro Genealogico. *Inf. Zootec.* 23 (18): 72-77.
- A.L. Catalano, F. Martuzzi, A. Summer (2001) - Morpho-aptitudinal evaluation for saddle service of Bardigiano horse breed stallions. *Proc. A.S.P.A. XIV Congress*, 641-642, 746 pp.
- A.L. Catalano, N. Miraglia, C. De Stefano, F. Martuzzi (1986) - Produzione di carne da cavalli di diverse categorie. *Ob. Docum.Veter.* 7 (12): 69-73.
- A.L. Catalano, A. Quarantelli (1979) - Caratteristiche di carcassa e composizione chimico-bromatologica delle carni di puledri da latte. *Clin. Vet.* 102 (6-7): 498-506.
- De Roest K., Menghi A., Montanari C. (2001) - Carne bovina, "l'effetto BSE" mette a rischio le stalle. *Agricoltura*, 29 (12): 46-48.
- I.S.T.A.T. (Annate varie) - Annuario Statistico Italiano. Istituto Nazionale di Statistica, Roma.
- A. Lacheretz, C. Ravaille, R. Darre, J.Y. Barraud (1990) - Le laiton et l'avenir des chevaux de trait - Etude pondérale, économique et de promotion. *Rev. Méd. Vét.* 141 (10): 749-757.
- M. Manfredini, A. Badiani, N. Nanni (1992) - Rese di macellazione, sviluppo dei componenti del quinto quarto e caratteristiche quanti-qualitative delle carcasse di puledro e cavallo. *Agric. Ric.* 14 (131): 23-40.
- M. Manfredini, A. Badiani (1993) - Il cavallo e la produzione di carne. *Proc. Convegno Nazionale Parliamo di..carni complementari*, 63-77.
- W. Martin-Rosset, R. Bocard, M. Jussiaux, J. Robelin, C. Trillaud (1980) - Rendement et composition des carcasses du poulain de boucherie. *Bull. Techn. CRZV Theix, INRA* 41: 57-64.

F. Martuzzi, C. Sussi, A.L. Catalano (2001) - Horse meat production and consumption in Italy. Book of Abstracts of the 52<sup>nd</sup> Annual Meeting of EAAP, (7): 323.

W. Martin-Rosset (2001) - Horse meat production and characteristics. Book of Abstracts of the 52<sup>nd</sup> Annual Meeting of EAAP, (7): 322.

S. Segato, G. Cozzi, I. Andrighetto (1999) - Effect of animal morphotype, sex and age on quality of horse meat imported from Poland. Proc. of the A.S.P.A. XIII Congress. 674-676.

## ELEMENTI IN TRACCIA IN MOLLUSCHI E CROSTACEI DELL'ALTO ADRIATICO

Ghidini S., Battaglia A., Zanardi E., Campanini G. <sup>1</sup>

### *Introduzione*

Da diversi anni il nostro interesse è rivolto alla distribuzione di alcuni elementi di interesse tossicologico e/o nutrizionale nel pescato del Mare Adriatico. L'attenzione verso l'area di pesca dell'Alto Mare Adriatico è dettata dalla esigua profondità delle acque, dal loro ridotto scambio e da altri fattori, quali la presenza di importanti zone industriali, nonché la vicinanza della foce del Po, che attraversa nel suo corso un territorio in cui sono massime le concentrazioni di insediamenti urbani, di attività industriali ed agricolo-zootecniche.

I cinque elementi presi in considerazione possono essere suddivisi in due gruppi:

- 1) elementi essenziali per l'uomo per i quali sono state stimate razioni giornaliere raccomandate come lo zinco oppure livelli prudenziali e adeguati di assunzione come il rame;
- 2) elementi conosciuti soprattutto per la loro tossicità come il mercurio o essenziali per una o più specie animali e vegetali ma non per l'uomo come cadmio e arsenico.

Naturalmente per tutti gli elementi ricordati, essenziali o meno, esiste una soglia di tossicità per la specie animale in cui l'elemento viene a trovarsi ed una soglia di pericolosità per l'uomo che se ne alimenta. Il rilevamento della sola presenza di un elemento non esaurisce ogni valutazione circa i rischi od i vantaggi che esso implica per la salute del consumatore; infatti le specie chimiche e la biodisponibilità possono influenzare in modo spesso importante tale valutazione <sup>1, 2</sup>.

All'incremento riscontrato negli ultimi decenni nell'ambiente di elementi tossici dovuto alle attività umane soprattutto nell'aria, consegue un aumento nell'acqua, nel terreno e nei sedimenti. Gli elementi tossici in ambiente subiscono modificazioni del loro stato di ossidazione così come il legame con molecole organiche che implicano modificazioni anche importanti della loro tossicità <sup>3, 4</sup>.

Le interazioni degli elementi tossici con gli organismi viventi nelle acque marine possono determinare, a seconda delle caratteristiche di specie, fenomeni di biomagnificazione lungo la catena trofica o di bioconcentrazione attraverso le acque <sup>5</sup>.

In numerosi organismi acquatici sono state isolate e studiate le metallotioneine. In particolare le metallotioneine sono state evidenziate nell'ostrica e nel mitilo <sup>6</sup>.

---

<sup>1</sup> Dipartimento di Produzioni Animali, Biotecnologie Veterinarie, Qualità e Sicurezza degli Alimenti.  
Sezione di "Sicurezza degli Alimenti"

Queste proteine svolgono un ruolo molto importante in quanto sono coinvolte nei processi di assorbimento, accumulo, disintossicazione, trasporto ed omeostasi dei metalli. La sintesi di metallotioneine è indotta dalla presenza di metalli e di altri xenobiotici nell'ambiente nonché da stimoli patofisiologici <sup>7</sup>.

I molluschi presentano un comportamento assai caratteristico nei confronti dell'accumulo nei loro tessuti di molti metalli; la sintesi di metallotioneine non è sufficiente a spiegare la tolleranza, talvolta molto elevata, alla loro tossicità. I cefalopodi ed i gasteropodi predatori presentano livelli elevati di cadmio indipendentemente dalla contaminazione dell'area di pesca. I bivalvi si prestano ad essere impiegati come bioindicatori per la reperibilità e la sedentarietà associate ad una limitata capacità di regolazione delle concentrazioni interne. Tra i crostacei, meno studiati rispetto ai molluschi, i decapodi (generalmente predatori) hanno attivi meccanismi omeostatici <sup>8</sup>.

### *Materiali e metodi*

I 40 campioni di molluschi ed i 22 di crostacei oggetto della ricerca sono stati acquistati ai mercati ittici o direttamente presso peschierie commerciali durante il mese di giugno 1999. Nelle località di raccolta, accertato il luogo di provenienza, gli individui campionati sono stati classificati e catalogati. In laboratorio è stato registrato il peso e la lunghezza; per gli individui di taglia più piccola, sono stati costituiti dei pool. I campioni sono stati successivamente congelati alla temperatura di -18°C. Dopo lo scongelamento si è proceduto con il prelievo della porzione muscolare che è stata omogeneizzata con sminuzzatore e sottoposta ad essiccamento in stufa a 103°C. Per i gamberetti di valle, i murici, le cozze e le vongole veraci si è proceduto, dopo sminuzzamento, all'essiccamento di più esemplari interi. Per due esemplari di crostacei e quattro di molluschi cefalopodi è stato prelevato anche l'epatopaneas. Ulteriori campioni sono stati preparati a partire da esemplari singoli, scelti tra quelli di dimensioni più elevate di molluschi bivalvi, tramite prelievo della porzione muscolare e di quella intestinale. È seguita una mineralizzazione con forno a microonde Milestone 1200 Mega per via umida in pressione. Aliquote di 0,2-0,3 g di campione essiccato sono state introdotte in capsule di teflon insieme a 3 ml di HNO<sub>3</sub> (65%) ed a 0.5 ml H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (110 volumi); le capsule sono state introdotte nel forno dove la mineralizzazione completa avveniva in 20' con un programma di 5 step a potenze crescenti e temperatura massima di 180<sup>0</sup> C; dopo raffreddamento il liquido è stato portato al volume finale di 10 ml.

Le determinazioni spettrofotometriche sono state eseguite con un apparecchio Perkin-Elmer Mod.305/B equipaggiato con lampade a scarica in radiofrequenza, con sistema di atomizzazione in fiamma ossi-acetilenica per Cu e Zn, a fornello di grafite (HGA500) per Cd e con apparecchio per la generazione di idruri (MS20) per Hg ed As. Per garantire l'accuratezza della preparazione e della determinazione analitica sono stati effettuati controlli su materiali di riferimento NBS (SRM 1566 e SRM 1577).

Le concentrazioni dei cinque elementi ottenute, unitamente ai dati relativi ai campioni (località di provenienza, specie, lunghezza, peso) sono state elaborate tramite il programma statistico SPSS <sup>9</sup>.

## Risultati e discussione

Nella Tabelle 1 e 2 sono espressi i risultati delle determinazioni analitiche degli elementi. Si riportano per ogni specie e località di raccolta, il numero di campioni, la media e la deviazione standard delle concentrazioni degli elementi in mg/kg di peso fresco.

Nella Tabella 3 sono espressi i risultati relativi agli organismi di cui è stata effettuata la determinazione analitica degli elementi nel muscolo e nell'epatopancreas. Si riportano per ogni individuo la località di provenienza, la lunghezza in cm (L), il peso in g (P), la concentrazione in mg/kg di peso fresco nel muscolo (m) e nell'epatopancreas (e).

### Rame

Nei molluschi si osservano differenze marcate tra classi con valori molto alti nel gasteropode *Murex trunculus*, intermedi nei cefalopodi e piuttosto bassi nei bivalvi. Per *Octopus vulgaris* e per *Sepia officinalis* il confronto per località di raccolta tra Caorle e Porto Garibaldi evidenzia valori significativamente più alti nell'ultima località:  $p=0,005$  per polpo  $p=0,022$  per seppia.

L'aumento delle concentrazioni con l'aumentare del peso si osserva per i polpi di Caorle ( $p=0,059$ ) e per il totale delle cozze, pur con debole significatività ( $p=0,165$ ).

Nei crostacei i valori sono mediamente doppi rispetto a quelli dei molluschi, ma con notevoli differenze tra specie. I tenori più alti sono quelli dei gamberetti (*Plesionika spp.*) ed i più bassi quelli di *Aristaeomorpha foliacea*.

L'esame dei dati relativi a muscolo ed epatopancreas rivela rapporti di concentrazione molto alti: di due ordini di grandezza per le seppie e di uno per i polpi, mentre non ci sono differenze nei bivalvi.

### Zinco

Anche per questo elemento per i molluschi i valori più alti sono quelli della specie *Murex trunculus*, mentre cefalopodi e bivalvi hanno tenori più bassi e simili tra loro. La stazione di Porto Garibaldi ha tenori più elevati di quella di Caorle per tutte le specie, anche se in modo significativo soltanto per *Octopus vulgaris* ( $p=0,012$ ). Il test post hoc per *Tapes semidecussatus* denota che gli esemplari di Porto Garibaldi e di Goro appartengono ad un gruppo diverso rispetto a quelli di Caorle.

La correlazione positiva dei tenori di zinco con il peso è molto significativa per le seppie e per i polpi.

I livelli di Zn nei crostacei sono simili a quelli dei molluschi, con i tenori più bassi in *Aristaeomorpha foliacea*.

Per *Squilla mantis* il confronto tra Caorle e Porto Garibaldi mostra una differenza significativa tra le due popolazioni, ma ancora di segno opposto con i livelli più alti a Caorle ( $p=0,036$ ).

L'esame dei dati relativi a muscolo ed epatopancreas rivela rapporti di concentrazione alti, dell'ordine di 20-30 per seppie e polpi, mentre nei bivalvi il rapporto è di 2-3, così come nel gambero blu.

LOCALITA'	SPECIE	NOME	N	Valore	Cu	Zn	Hg	Cd	As
Porto Garibaldi	Calamaro	<i>Loligo vulgaris</i>	5	<b>Media</b>	<b>5,38</b>	<b>10,1</b>	<b>0,016</b>	<b>0,395</b>	<b>5,6</b>
				Dev.st	1,13	0,8	0,004	0,027	1,7
Caorle	Polpo	<i>Octopus vulgaris</i>	5	<b>Media</b>	<b>2,87</b>	<b>11,9</b>	<b>0,026</b>	<b>0,052</b>	<b>27,8</b>
				Dev.st	0,40	1,5	0,008	0,005	4,0
Porto Garibaldi	Polpo	<i>Octopus vulgaris</i>	5	<b>Media</b>	<b>5,43</b>	<b>14,6</b>	<b>0,884</b>	<b>0,043</b>	<b>68,0</b>
				Dev.st	1,44	1,0	0,194	0,005	16,4
Caorle	Seppia	<i>Sepia officinalis</i>	5	<b>Media</b>	<b>2,15</b>	<b>10,5</b>	<b>0,124</b>	<b>0,041</b>	<b>46,9</b>
				Dev.st	0,22	2,5	0,027	0,009	21,0
Porto Garibaldi	Seppia	<i>Sepia officinalis</i>	4	<b>Media</b>	<b>4,42</b>	<b>11,4</b>	<b>0,117</b>	<b>0,032</b>	<b>64,8</b>
				Dev.st	1,73	0,9	0,053	0,003	22,1
Goro	Cozza	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	3	<b>Media</b>	<b>1,64</b>	<b>10,3</b>	<b>0,025</b>	<b>0,166</b>	<b>2,5</b>
				Dev.st	0,18	1,6	0,003	0,020	0,4
Porto Garibaldi	Cozza	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	3	<b>Media</b>	<b>1,48</b>	<b>25,4</b>	<b>0,030</b>	<b>0,232</b>	<b>1,5</b>
				Dev.st	0,27	9,2	0,002	0,043	0,0
Caorle	Vongola verace	<i>Tapes semidecussatus</i>	2	<b>Media</b>	<b>1,45</b>	<b>9,9</b>	<b>0,052</b>	<b>0,091</b>	<b>2,7</b>
				Dev.st	0,23	0,7	0,012	0,003	1,1
Goro	Vongola verace	<i>Tapes semidecussatus</i>	4	<b>Media</b>	<b>1,68</b>	<b>15,4</b>	<b>0,020</b>	<b>0,127</b>	<b>1,7</b>
				Dev.st	0,15	1,0	0,002	0,018	0,6
Porto Garibaldi	Vongola verace	<i>Tapes semidecussatus</i>	2	<b>Media</b>	<b>1,72</b>	<b>16,0</b>	<b>0,029</b>	<b>0,145</b>	<b>1,5</b>
				Dev.st	0,56	0,8	0,004	0,025	0,2
Caorle	Murice	<i>Murex trunculus</i>	2	<b>Media</b>	<b>15,91</b>	<b>47,0</b>	<b>0,029</b>	<b>0,493</b>	<b>94,9</b>
				Dev.st	2,30	4,6	0,004	0,227	10,1
<b>TOTALE</b>			<b>40</b>	<b>Media</b>	<b>3,83</b>	<b>15,0</b>	<b>0,159</b>	<b>0,149</b>	<b>31,2</b>
				Dev.st	3,37	9,1	0,292	0,149	32,3

TABELLA 1 – Concentrazioni degli elementi considerati (esprese in mg/kg sul fresco) riscontrate nei molluschi.

LOCALITA'	SPECIE	NOME	N	Valore	Cu	Zn	Hg	Cd	As
Porto Garibaldi	gamberetti di valle	<i>Plesionika spp.</i>	3	<b>Media</b>	<b>25,40</b>	<b>16,87</b>	<b>0,020</b>	<b>0,024</b>	<b>10,39</b>
				Dev.st	3,39	2,28	0,002	0,008	3,48
Porto Garibaldi	gambero	<i>Aristaeomorpha foliacea</i>	6	<b>Media</b>	<b>2,93</b>	<b>9,28</b>	<b>0,023</b>	<b>0,161</b>	<b>5,16</b>
				Dev.st	0,63	0,61	0,010	0,039	3,08
Porto Garibaldi	gambero blu	<i>Macrobrachium rosenbergii</i>	4	<b>Media</b>	<b>8,91</b>	<b>14,87</b>	<b>0,011</b>	<b>0,060</b>	<b>1,15</b>
				Dev.st	1,18	0,56	0,008	0,016	0,38
Caorle	pannocchia	<i>Squilla mantis</i>	4	<b>Media</b>	<b>22,31</b>	<b>22,00</b>	<b>0,189</b>	<b>0,468</b>	<b>11,56</b>
				Dev.st	3,31	1,74	0,094	0,232	4,53
Porto Garibaldi	pannocchia	<i>Squilla mantis</i>	5	<b>Media</b>	<b>7,19</b>	<b>18,92</b>	<b>0,103</b>	<b>0,281</b>	<b>12,55</b>
				Dev.st	2,12	1,80	0,033	0,065	0,36
<b>TOTALE</b>			<b>22</b>	<b>Media</b>	<b>11,57</b>	<b>Media</b>	<b>0,069</b>	<b>0,207</b>	<b>7,99</b>
				Dev.st	8,96	4,87	0,078	0,181	5,08

TABELLA 2 – Concentrazioni degli elementi considerati (espresse in mg/kg sul fresco) riscontrate nei crostacei.

LOCALITA'	SPEC.	NOME	L	P	Cu		Zn		Hg		Cd		As	
					m	e	m	e	m	e	m	e	m	e
Caorle	polpo	<i>Octopus vulgaris</i>	27	105	3,00	142	13,6	304	0,034	0,281	0,050	2,514	32,7	25,2
Porto Garibaldi	polpo	<i>Octopus vulgaris</i>	40	265	5,96		16,2	401	0,883	0,220	0,047	14,11 6	93,6	31,4
Caorle	seppia	<i>Sepia officinalis</i>	28	281	2,34	628	14,6	426	0,112	0,298	0,039	7,899	37,8	36,6
Porto Garibaldi	seppia	<i>Sepia officinalis</i>	20	294	5,86	491	12,5	301	0,175	0,172	0,034	7,940	66,9	34,8
Goro	cozza	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	7,5	38	1,15		6,1	21,6	0,038	0,110	0,075	0,111	2,65	4,27
Goro	cozza	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	7,5	37	1,39	1,63	8,2	19,8	0,024	0,024	0,089	0,191	2,62	2,83
Porto Garibaldi	cozza	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	7,5	21	0,86		10,3	19,4		0,017	0,134	0,203	1,81	3,47
Porto Garibaldi	cozza	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	6,5	17		1,64		19,0	<0,01	0,015	0,051	0,278	1,90	2,67
Goro	vongola verace	<i>Tapes semidecussatus</i>	5	29	1,90		15,0		0,025	<0,03	0,044	0,082	1,91	2,48
Porto Garibaldi	gambero	<i>Aristaeomorpha foliacea</i>	16	39	3,56		9,4	29,1	0,014	0,162	0,159	6,257	2,84	2,24
Porto Garibaldi	gambero blu	<i>Macrobrachium rosenbergii</i>	19	80	7,48		14,8		0,003	0,045	0,044	9,118	1,10	6,63

TABELLA 3 – Concentrazioni degli elementi considerati (esprese in mg/kg sul fresco) riscontrate in diversi tessuti (m=muscolo, e=epatopancreas).

## Mercurio

I valori medi del metallo nei campioni analizzati sono piuttosto alti ed, in diversi casi, superiori al valore di legge fissato dal regolamento CE 466/2001 in 0.5 mg/kg. In particolare, tutti gli esemplari di *Octopus vulgaris* di Porto Garibaldi superavano tale limite. E', tuttavia, da osservare che la taglia di questi polpi è piuttosto elevata e che questi organismi sono predatori. Per *Sepia officinalis* questa differenza fra località non si osserva ed i *Loligo vulgaris* di Porto Garibaldi hanno livelli di Hg molto bassi, così come tutti i campioni di bivalvi e di *Murex trunculus*. Le vongole di Caorle hanno livelli significativamente più alti di quelle di Goro e di Porto Garibaldi ( $p=0,015$ ). Le cozze di quest'ultima località hanno livelli significativamente più alti di quelli delle cozze di Goro ( $p=0,064$ ).

Fra i crostacei segnaliamo tenori molto alti in *Squilla mantis*.

Per quanto concerne i livelli di Hg in muscolo ed epatopancreas, nei bivalvi e nei crostacei i tenori sono leggermente più alti rispetto a quelli del muscolo.

## Cadmio

Nei molluschi si osservano differenze marcate tra specie con valori bassi in *Octopus vulgaris* e *Sepia officinalis*, mentre nell'altro cefalopode *Loligo vulgaris* sono piuttosto alti. Ancor più alti sono i tenori in *Murex trunculus*, mentre i bivalvi hanno tenori intermedi.

Non sono emerse differenze tra località. Ciò testimonia l'ubiquitarietà di tale contaminante.

Tra i crostacei la specie che accumula maggiormente l'elemento è *Squilla mantis*, con tenori vicini a quelli dei murici. Tra le altre si distinguono i gamberetti con livelli molto bassi.

Non sono emerse differenze significative tra località di campionamento, così come correlazioni tra i tenori di Cd ed il peso.

Importante rilevare che, in ogni caso, le concentrazioni del metallo sono sempre state inferiori al limite di legge fissato ad 1 mg/kg dal recente regolamento CE 466/2001.

L'esame dei dati relativi a muscolo ed epatopancreas rivela che i rapporti di concentrazione nei cefalopodi sono dell'ordine di qualche centinaia, mentre è di circa 2 nei bivalvi. Notevoli differenze anche nei due gamberi esaminati: l'epatopancreas di *Aristaeomorpha foliacea* concentra 40 volte il metallo, mentre quello di *Macrobrachium rosenbergii* lo concentra 200 volte.

## Arsenico

Nei molluschi si osservano differenze marcate tra classi, con valori molto alti nel gasteropode *Murex trunculus* e nei cefalopodi, in particolare in *Octopus vulgaris* e *Sepia officinalis*. Le concentrazioni di As risulano, invece, piuttosto basse nei bivalvi.

Tra i crostacei segnaliamo livelli decisamente bassi in *Macrobrachium rosenbergii*. Le concentrazioni del metalloide sono alte nelle canocchie che, anche per questo elemento, si presentano come le più ricche. Tuttavia i tenori sono più bassi di un fattore 10 rispetto ai murici.

L'andamento dei tenori di As sembra non legato al peso.

I livelli di As nell'epatopancreas nei cefalopodi sono alti e simili a quelli del muscolo. Lo stesso andamento si può riscontrare nelle altre specie esaminate, ovviamente a concentrazioni inferiori.

**RIASSUNTO** - Sono state determinate le concentrazioni di rame, zinco, mercurio, cadmio e arsenico in invertebrati marini di interesse alimentare. I campioni raccolti nel 1999 in località dell'Alto Adriatico comprendono alcune specie di Crostacei e di Molluschi appartenenti alle classi dei bivalvi, dei cefalopodi e dei gasteropodi. I livelli dei cinque elementi in traccia sono stati determinati tramite Spettrofotometria di Assorbimento Atomico dopo mineralizzazione per via umida della porzione edibile.

Le concentrazioni degli elementi rilevate sono in funzione di caratteristiche di specie ed in alcuni casi sono state osservate differenze tra le località di raccolta. E' stato effettuato un confronto tra i livelli dei metalli nelle varie categorie con significato tassonomico. Sono state studiate le concentrazioni degli elementi in diversi distretti corporei degli animali al fine di capirne il metabolismo e l'origine. Sono, infine, state studiate le relazioni tra i livelli di elementi in traccia e la taglia.

### *Conclusioni*

Il confronto tra i dati presentati e quelli di analoghe ricerche fatte dal presente gruppo di ricerca nel passato porta a fare alcune considerazioni, soprattutto riguardo le concentrazioni degli elementi considerati tossici per la salute umana. In primis, le concentrazioni di mercurio che nel passato sembravano il problema principale sembrano, fortunatamente, in calo. Solo in alcuni sporadici casi si sono riscontrate concentrazioni di mercurio ancora superiori alle tolleranze di legge. Le concentrazioni di arsenico e cadmio, al contrario, sembrano in aumento rispetto al passato. Soprattutto nel caso dell'arsenico le concentrazioni riscontrate in alcune specie sono molto alte. È, tuttavia, difficile valutare l'effettivo pericolo costituito da tali concentrazioni del metalloide negli elementi marini. È, infatti, risaputo che solo la frazione inorganica di arsenico è nociva per la salute umana, mentre la frazione del metalloide legata a molecole organiche è considerata completamente atossica, non essendo assimilata nel tratto intestinale o venendo rapidamente metabolizzata ed escreta per via urinaria. Le informazioni su quale sia la frazione di arsenico in forma inorganica negli alimenti sono scarse. Le valutazioni del rischio per la salute umana costituito dall'arsenico solitamente considerano, nei prodotti della pesca, una frazione di arsenico inorganico pari al 90-99% del totale. Nel caso di concentrazioni tanto alte quanto quelle riscontrate dalla presente ricerca questa informazione non è sufficiente per una precisa stima del rischio. Purtroppo le metodiche validate per la speciazione dell'arsenico sono ancora poche, sono del tutto sperimentali e richiedono l'uso di tecniche analitiche complesse e costose quali quelle ottenute accoppiando la cromatografia liquida ad alta pressione (HPLC) con la spettrometria di emissione atomica con eccitazione al plasma ad induzione (ICP-AES) oppure con la spettrometria di massa con eccitazione al plasma ad induzione (ICP-MS)<sup>10,11</sup>.

Per quanto riguarda le differenze tra località, non è possibile tracciare una precisa mappa dei diversi gradi di inquinamento nelle diverse aree in quanto i risultati sono spesso discordanti.

Il cadmio viene concentrato nell'epatopancreas degli animali analizzati, mentre per arsenico e mercurio si sono riscontrate concentrazioni simili tra tessuto muscolare ed epatopancreas. Le ragioni di tale situazione sono almeno due. L'epatopancreas contiene proteine in grado legare selettivamente il cadmio e non gli altri elementi tossici per l'uomo. Il cadmio, per questi organismi, è soprattutto di origine alimentare, mentre arsenico e mercurio derivano dalla contaminazione delle acque.

### *Bibliografia*

- 1) Turnlund JR. Bioavailability of Dietary Minerals to Humans: The Stable Isotope Approach. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 1991; 30(3): 387-96.
- 2) Ybanez N, Montoro R. Trace Element Food Toxicology: An Old and Ever-Growing Discipline. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 1996; 36(4): 299-320.
- 3) Viviani R. Inquinamento delle acque marine costiere: gli animali marini come dispositivo di monitoraggio. *Atti XLIII Convegno Nazionale S.I.S.Vet.* 1989; 27-43.
- 4) Kaim W, Schwederski B. Bioinorganic Chemistry: Inorganic Elements in the Chemistry of Life. Stuttgart: Wiley; 1991. 17: 330-48.
- 5) Orlando E. Accumulo e detossificazione di metalli pesanti in organismi marini. *Atti Convegno Internazionale Inquinamento Ambientale e Popolazioni Animali.* 1989. 47-55.
- 6) Carpenè E, Cattani O, Hakim G, Serrazanetti GP. Metallothionein from foot and posterior adductor muscle of *Mytilus galloprovincialis*. *Comp Biochem Physiol* 1983; 74C(2): 331-6.
- 7) Serra R, Carpenè E. Metallothioneina e fitochelatine. In: Carpenè E, Isani G, Serra R, editors. *Argomenti di Idrobiologia e Acquacoltura.* Bologna: Clueb; 1995. p. 239-48.
- 8) Orlando E. Valutazione dell'inquinamento marino da metalli pesanti tramite l'uso di indicatori biologici. *Oebalia* 1985; XI: 93-100.
- 9) SPSS 10.1 per Windows.
- 10) Larsen E. H., Quérel C. R., Munoz R., Medioni A. F., Donard A, F. X. (1997) Arsenic speciation in shrimp and mussel from the Mid-Atlantic hydrothermal vents. *Marine Chemistry* 57, 341-346.
- 11) Corr J. J., Larsen E. H. (1996) Arsenic speciation by liquid chromatography coupled with ionspray tandem mass spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, vol. 11, 1215-1224.

## OSSERVAZIONI SULL'ANDAMENTO DELLE PRINCIPALI CARATTERISTICHE CASEARIE DEL LATTE PER PARMIGIANO-REGGIANO DURANTE GLI ANNI 1990

S. Sandri<sup>1</sup>, F. Tosi<sup>1</sup>, M.S. Mariani<sup>1</sup>, P. Vecchia<sup>2</sup>, M. Malacarne<sup>3</sup>, A. Summer<sup>3</sup>

### *Introduzione*

Nel corso del XX secolo la produzione del latte si è profondamente modificata, sia sotto il profilo quantitativo che qualitativo, in conseguenza dell'introduzione di nuove razze, del miglioramento genetico che ha interessato l'intero patrimonio bovino, nonché per effetto della successiva applicazione e sempre più incisiva diffusione di nuove tecnologie di alimentazione e di allevamento intese in senso lato.

Sono ben documentate le radicali modificazioni che a partire dall'inizio del secolo hanno interessato sia la caseina che l'acidità titolabile, in entrambi i casi in senso decisamente negativo (1, 2). Più in generale, sotto questo profilo fanno fede anche i ritocchi di ordine normativo che, ad esempio, sono stati via via apportati al residuo secco magro, il cui valore dal 9% di fine 1800 inizio 1900 (3) è passato a 8,70% (4) fino all'attuale 8,50% (5, 6) già in parte ammesso anche dal DPR del 1963 (4).

Lo scopo dell'indagine è stato quello di monitorare la qualità del latte prodotto in provincia di Parma, destinato alla trasformazione in Parmigiano-Reggiano, attraverso lo studio dell'andamento delle principali caratteristiche chimico-fisiche, microbiologiche e tecnologico-casearie nel corso degli anni 1990.

### *Materiali e metodi*

L'indagine è stata condotta su campioni di latte di massa, prelevati nel corso degli anni novanta (1991÷2000) da allevamenti bovini di pianura, collina e montagna, ubicati in provincia di Parma, produttori di latte destinato alla trasformazione in formaggio Parmigiano-Reggiano. Presso ciascun allevamento (Tab. 1) sono stati effettuati due sopralluoghi al mese, di cui uno nella prima quindicina in corrispondenza della mungitura della sera e l'altro nella seconda in corrispondenza della mungitura del mattino, e viceversa, consecutivamente nel corso di un intero anno solare.

Sui campioni di latte di massa di singoli allevamenti sono state effettuate, come di seguito precisato (s = latte sera; m = latte mattino), le seguenti analisi secondo le modalità indicate:

---

<sup>1</sup> Centro Lattiero Caseario, via Torelli 17, 43100 Parma.

<sup>2</sup> Centro Ricerche Produzioni Animali, corso Garibaldi 42, 42100 Reggio Emilia.

<sup>3</sup> Scienze Zootecniche e Qualità delle Produzioni Animali; Dipartimento di Produzioni Animali, Biotecnologie Veterinarie, Qualità e Sicurezza degli Alimenti; Università degli Studi di Parma; via del Taglio 8, 43100 Parma.

- acidità titolabile (m) secondo Soxhlet-Henkel (7) mediante elettrotitolatore Crison Compact D;
- grasso e proteina (s, m) mediante letture nel medio infrarosso (8) con Milko-Scan 134A/B, da cui è stata ricavata la caseina (proteina x 0,77);
- cellule somatiche (s, m) (9) con apparecchio Fossomatic 250;
- carica microbica totale (s), test della reduttasi mediante resazzurina (7), espressa in normale (N), elevata (E) ed elevatissima (EE);
- batteri coliformi (m) su terreno VRBA a 30°C per 24 h (10);
- spore clostridi butirrici (s, m); ricerca positiva (+) o negativa (-) secondo Weinzirl modificato da Annibaldi (11);
- lattodinamografia (m) con Formagraph per la valutazione dei tipi A, B, C, D, E, F secondo Annibaldi *et al.* (12): A (+B, C) = buona reattività; E = ridotta coagulabilità; F = gravi anomalie di coagulazione.

I dati raccolti sono stati illustrati sotto forma di valori medi annui, ricavati per via aritmetica.

### *Risultati e discussione*

I risultati sono riportati nelle tabelle 1-3, ed in parte illustrati nelle figure 1 e 2, nell'ambito delle quali viene rappresentato il confronto tra latte prodotto in pianura e in montagna.

a) *Contenuti di caseina e di grasso.* - Il contenuto di caseina, già in fase decrescente, verso la fine degli anni '80 raggiunge valori mediamente piuttosto bassi, dell'ordine di 2,30%. In seguito, si registra una inversione di tendenza, che, in misura graduale, interessa l'intero periodo degli anni '90 (Tab. 1), probabilmente, almeno in parte, per effetto degli interventi messi in atto nell'ambito dei programmi di miglioramento genetico delle razze Bruna e Frisona italiana. Nel 1995 il contenuto di caseina risulta uguale a 2,36% e nel 2000 raggiunge un valore degno di rilievo pari a 2,41%. Il latte prodotto nel decennio contiene mediamente il 2,375% di caseina.

Nel corso degli anni '90 tende a ridursi la frequenza, peraltro già molto bassa (1-2%), dei latti aventi un contenuto di caseina inferiore o uguale a 2,10%, come pure la numerosità dei latti con contenuto di caseina compreso tra 2,11 e 2,25%, la cui frequenza da 22-23% si contrae a valori di circa 8-10%. Per contro, si registra un aumento sia della frequenza dei latti contenenti 2,41÷2,55% di caseina, che da valori del 20-23% della prima fase passa al 36-39% nella seconda, sia di quelli con contenuto di caseina variabile tra 2,56 e 2,70%; quest'ultimo fenomeno, in fase di contrazione numerica dei piccoli allevamenti e della minore incidenza della stagionalità dei parti, appare indicativo di un trend più che positivo per il contenuto proteico del latte.

Gli andamenti riguardanti il latte degli allevamenti di pianura (in media 5203 osservazioni/anno) e quello degli allevamenti delle zone montane (in media 1465 osservazioni/anno), sufficientemente regolari, appaiono tra loro abbastanza simili (Fig. 1). Il latte prodotto negli allevamenti di montagna risulta mediamente più provvisto di caseina (2,40%) rispetto a quello di pianura (2,37%). La differenza tra le zone, di maggiore entità nella prima fase, tende a ridursi sensibilmente nella seconda metà degli anni '90.

Tabella 1 - Valori di caseina e di grasso del latte prodotto durante gli anni 1990.

*Table 1 - Casein and fat values of the milk produced during years 1990.*

		1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	Media
<i>Allevamenti - Herds</i>	no.	427	432	412	371	371	361	315	288	251	227	—
<i>Caseina</i> <sup>(1)</sup>	g/100g	2,33	2,34	2,35	2,35	2,36	2,40	2,40	2,40	2,41	2,41	2,38
≤ 2,10	%	2,27	1,84	2,16	1,78	0,98	0,37	0,91	0,54	0,17	0,15	1,12
2,11-2,25	%	28,15	24,68	21,68	21,58	17,06	9,16	12,36	9,01	7,55	7,70	15,9
2,26-2,40	%	43,80	44,52	43,51	45,05	48,42	43,67	41,42	43,20	44,58	41,36	43,95
2,41-2,55	%	18,67	21,80	23,54	23,53	26,84	36,53	34,33	36,65	37,52	39,73	29,91
2,56-2,70	%	5,32	5,76	6,35	6,25	5,31	7,80	8,60	9,01	8,79	9,46	7,27
> 2,70	%	1,79	1,40	2,76	1,81	1,39	2,47	2,38	1,59	1,39	1,60	1,86
<i>Grasso</i> <sup>(1)</sup>	g/100g	3,67	3,67	3,64	3,61	3,63	3,64	3,60	3,69	3,63	3,56	3,63
≤ 3,30	%	11,25	9,93	11,91	13,34	11,21	9,74	12,59	8,59	13,44	17,53	11,95
3,31-3,50	%	19,64	20,01	21,84	21,67	22,71	21,02	24,13	17,00	20,89	23,42	21,23
3,51-3,70	%	25,11	26,06	27,03	27,62	27,98	28,83	31,15	25,31	25,50	27,15	27,17
3,71-3,90	%	21,04	22,46	21,13	20,24	21,75	24,77	21,44	28,67	23,66	23,24	22,84
> 3,90	%	22,96	21,54	18,09	17,13	16,35	15,64	10,69	20,43	16,51	8,66	16,80

<sup>(1)</sup> 2 prelievi di latte al mese per ciascun allevamento; *2 monthly milk collections for each herd.*

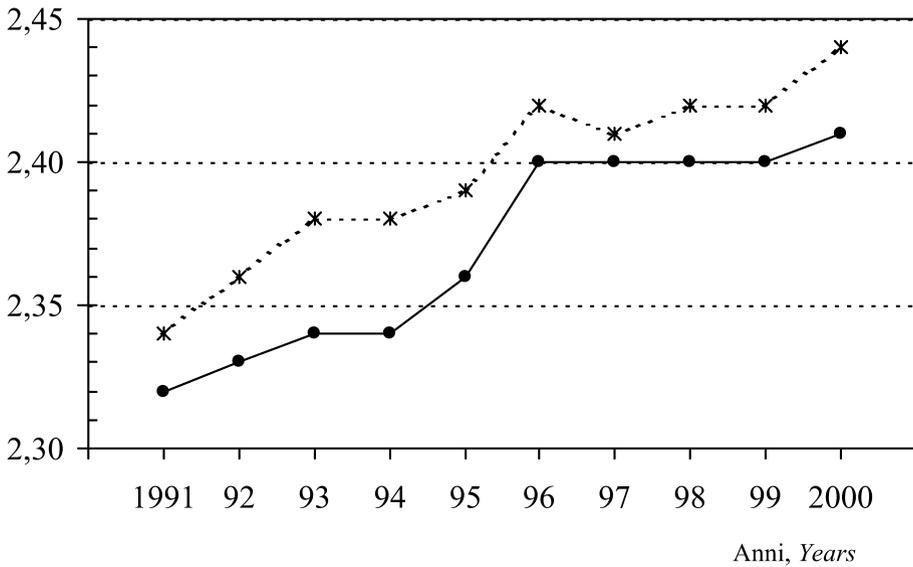


Figura 1 - Andamento del contenuto di caseina del latte durante gli anni 1990 (g/100g). Allevamenti pianura (—•—); allevamenti montagna (--\*--).  
 Figure 1 - Trend of the milk casein content during years 1990 (g/100g). Plain herds (—•—); mountain herds (--\*--).

Il contenuto in grasso del latte prodotto nel decennio, mediamente pari a 3,634%, manifesta un andamento molto meno regolare rispetto a quello della caseina (Tab. 1). Esso, inizialmente risulta più elevato, mentre i valori che si registrano durante le fasi centrali e finali dell'intero periodo (ad eccezione del 1998) sembrano indicare una tendenza alla diminuzione, soprattutto con riferimento al dato medio di grasso del latte prodotto nel corso del 2000, che risulta pari a 3,56%, segnatamente il valore annuo più basso; ciò probabilmente anche in rapporto alle note problematiche legate alle quote latte, senza ignorare l'intervento di altri fattori, di natura alimentare e/o climatica, che hanno determinato, ad esempio, la particolare situazione del 1998. La numerosità della classe di frequenza 3,51÷3,70%, che racchiude il valore medio di grasso dell'intero decennio, risulta abbastanza uniforme nel tempo, mentre quella che comprende i valori al di sopra di 3,90% oscilla ampiamente tra il 23% del 1991 ed il 9% dell'anno 2000.

Il contenuto in grasso del latte prodotto negli allevamenti di montagna (3,69%) risulta mediamente superiore rispetto a quello del latte di pianura (3,63%). Gli andamenti sono pressoché analoghi. In questo caso, dal 1996 in avanti gli scarti tra latte di montagna e latte di pianura, al contrario di quanto osservato per il contenuto di caseina, tendono ad essere maggiori rispetto a quelli osservati all'inizio degli anni '90 (nel 2000 lo scarto è di una linea).

b) *Cellule somatiche, acidità e attitudine alla coagulazione.* - Il contenuto di cellule somatiche, inizialmente diminuisce fino al 1995, passando da 380000 a 337000 unità/ml (Tab. 2); quindi si registra un temporaneo incremento fino al 1998 (363000

Tabella 2 - Cellule somatiche, acidità titolabile e caratteristiche di coagulazione (lattodinamografia) del latte prodotto durante gli anni 1990.

Table 2 - Somatic cells count, titratable acidity and coagulation characteristics (lactodynamography) of the milk produced during years 1990.

		1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	Media
<i>Cellule somatiche</i> <sup>(1)</sup>	10 <sup>3</sup> /ml	380	361	359	353	337	350	352	363	342	332	353
≤ 350	%	59,64	62,95	63,04	63,35	65,14	63,23	61,80	59,78	63,72	66,03	62,87
351-500	%	22,63	22,13	22,29	21,97	21,66	22,17	23,72	24,25	23,27	21,35	22,54
501-900	%	12,96	10,66	10,94	11,44	10,14	11,43	10,97	12,05	9,89	10,18	11,07
> 900	%	4,77	4,26	3,73	3,24	3,06	3,17	3,51	3,92	3,12	2,44	3,52
<i>Acidità titolabile</i> <sup>(2)</sup>	°SH/50ml	3,17	3,14	3,23	3,21	3,18	3,23	3,21	3,23	3,22	3,19	3,20
≤ 2.90	%	3,26	4,65	1,39	1,88	2,42	1,50	1,85	2,14	2,06	2,12	2,33
2.91-3.20	%	42,19	48,17	29,53	34,96	41,91	34,79	37,62	33,93	35,12	44,58	38,28
3.21-3.80	%	54,36	47,08	68,58	62,83	55,38	63,18	60,26	63,55	62,49	53,04	59,08
3.81-4.10	%	0,19	0,09	0,48	0,31	0,27	0,51	0,19	0,32	0,30	0,22	0,29
> 4.10	%	0,00	0,01	0,02	0,02	0,02	0,02	0,08	0,06	0,03	0,04	0,03
<i>Lattodinamografia</i> <sup>(2)</sup>												
tipo A	%	63,83	67,55	81,23	76,43	73,63	66,56	61,43	54,51	69,31	84,03	69,85
tipo E	%	33,52	30,07	18,07	22,49	25,20	32,71	37,44	43,98	30,23	15,56	28,93
tipo F	%	2,25	2,30	0,54	1,00	1,10	0,62	1,08	1,42	0,40	0,37	1,11
tipo D	%	0,40	0,08	0,16	0,08	0,07	0,11	0,05	0,09	0,06	0,04	0,11

(1) 2 prelievi di latte al mese per ciascun allevamento (vedi tab.1); 2 monthly milk collections for each herd (see Table 1).

(2) 1 prelievo di latte al mese per ciascun allevamento (vedi tab.1); 1 monthly milk collection for each herd (see Table 1).

unità/ml), anno caratterizzato da condizioni climatiche estive particolarmente sfavorevoli (13), cui fa seguito una sensibile riduzione dei valori, che verso la fine del decennio si attestano sulle 342÷332000 unità per ml di latte. Il contenuto di cellule somatiche del latte prodotto nel corso del decennio risulta mediamente pari a 353000 unità/ml; il valore è superiore rispetto a quanto osservato negli anni '80 (2).

I lattici con contenuto cellulare inferiore o uguale a 350000 unità/ml, maggiormente idonei per la trasformazione casearia, risultano circa il 63% del totale. La classe caratterizzata da 351÷500000 cellule/ml, numericamente più costante, comprende il 23% circa delle osservazioni. La frequenza dei lattici contenenti più di 500000 cellule/ml, che varia tra il 18% circa del 1991 ed il 13% circa del 2000, è da considerare mediamente piuttosto elevata, indice di latte fisiologicamente non del tutto idoneo per la trasformazione in formaggio Parmigiano-Reggiano, anche se l'andamento nel suo complesso, con l'abbassamento dei valori di fine periodo, prospetta una evoluzione moderatamente positiva. Data l'importanza di tale parametro analitico, per i riflessi sul comportamento tecnologico del latte nelle varie fasi della caseificazione, è possibile affermare (14) che l'incidenza di queste "partite" è da considerare come piuttosto preoccupante.

Il latte degli allevamenti di montagna presenta un contenuto cellulare mediamente inferiore (315000 unità/ml) rispetto a quello degli allevamenti di pianura (359000 unità/ml), rappresentati, in media, rispettivamente da 1466 e da 5203 osservazioni/anno. La differenza tra le due zone risulta di maggiore entità durante la prima fase dell'intero periodo. In effetti, mentre i valori del latte di pianura manifestano variazioni pressoché regolari, con tendenza alla diminuzione, quelli del latte di montagna, inizialmente bassi, nella seconda metà del decennio aumentano sensibilmente fino a raggiungere o quasi la stessa entità di quelli della pianura (Fig. 2).

L'acidità titolabile varia in misura limitata tra un minimo di 3,14 ed un massimo di 3,23 °SH per 50 ml di latte (Tab. 2). All'inizio del periodo i valori risultano mediamente più bassi, mentre successivamente si registra un loro incremento, eccetto in corrispondenza dell'anno 2000. Nel loro complesso le variazioni dell'acidità appaiono congrue con riferimento a quelle riguardanti il contenuto di caseina (tendenza all'aumento) e, in parte, anche con quelle delle cellule somatiche (tendenza alla diminuzione). Il valore acidimetrico del latte prodotto durante gli anni '90 risulta mediamente piuttosto basso, pari a 3,20 °SH per 50 ml di latte. Questo dato conferma la tendenza alla diminuzione dell'acidità titolabile, parametro di fondamentale importanza nella tecnologia di produzione del formaggio grana, come si è potuto registrare nel corso di circa un secolo: da valori superiori a 4,00 °SH segnalati all'inizio del 1900, si è passati attraverso valori di 3,80 °SH (anni '30÷'40) e 3,50 °SH (anni '50÷'60), fino a toccare valori di 3,35 °SH/50 negli anni '70÷'80 (1).

Nel corso degli anni '80, il latte prodotto in provincia di Parma (2, 14) faceva registrare valori di acidità titolabile dell'ordine di 3,25-3,30 °SH/50 ml. Le variazioni dell'acidità nel lungo periodo sono state sempre rapportate alla diminuzione del contenuto in caseina del latte (1). Gli attuali valori, però, sono tali da far ritenere che il fenomeno sia, almeno in parte, legato anche ad una diminuzione del contenuto in fosforo del latte (15). I lattici propriamente ipoacidi ( $\leq 2,90$  °SH), non idonei per la caseificazione a Parmigiano-Reggiano, rappresentano poco più del 2% del totale. Numericamente ben rappresentati (ca. 38%), anche se con una incidenza variabile di

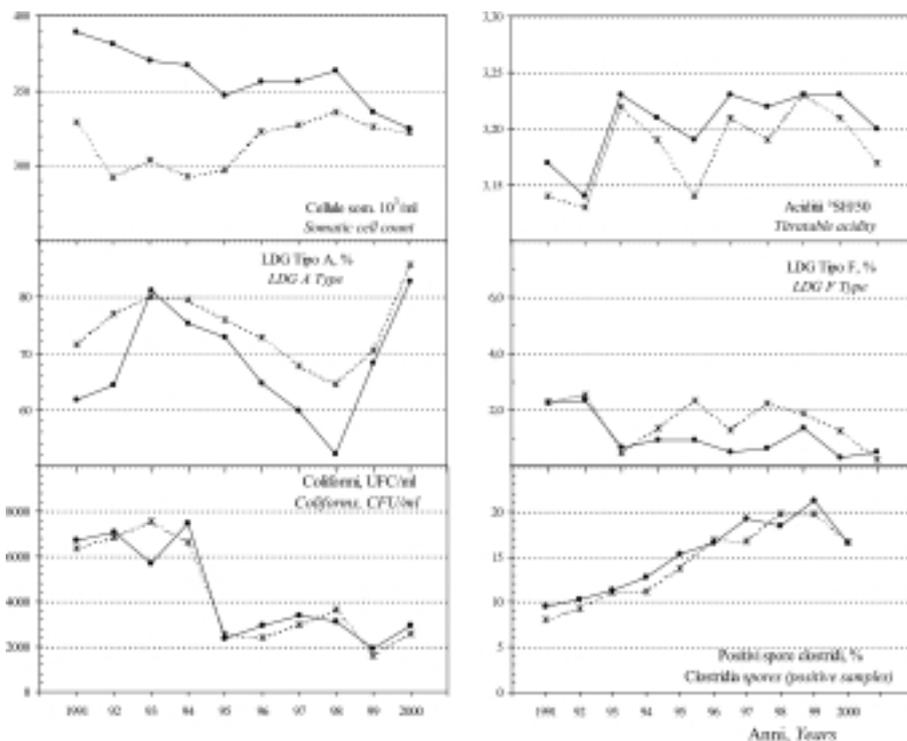


Figura 2 - Andamento delle principali caratteristiche del latte durante gli anni 1990. Allevamenti pianura (—●—); allevamenti montagna (--\*--). LDG = lattodinamografia.

Figure 2 - Trend of the main milk characteristics during years 1990. Plain herds (—●—); mountain herds (--\*--). LDG = lactodynamography.

anno in anno, risultano invece i latti che ricadono nella classe intermedia, con valori di acidità compresi tra 2,91 e 3,20 °SH/50 ml. Ciò a scapito della frequenza della classe ad acidità pressoché ottimale (3,21÷3,80 °SH), la cui rappresentatività media (ca. 59%) diminuisce sensibilmente rispetto a quella segnalata nel corso degli anni '80 (14).

Il latte prodotto negli allevamenti di montagna presenta una acidità titolabile mediamente inferiore (3,18 °SH) rispetto a quella del latte degli allevamenti di pianura (3,21 °SH), rappresentati, in media, rispettivamente da 735 e da 2889 osservazioni/anno. Ciò contrariamente alle attese, con riferimento ai valori di caseina e di cellule somatiche; il dato, sebbene di non facile spiegazione, è però pressoché sistematico (Fig. 2). Dall'esame della ripartizione per classi acidimetriche, tuttavia, è possibile rilevare che in montagna la frequenza dei latti ipoacidi ( $\leq 2,90$  °SH) risulta mediamente più elevata (ca. 4,63%) rispetto a quella di pianura (ca. 1,74%), probabilmente anche in rapporto al fatto che in montagna si ha una maggiore incidenza numerica degli allevamenti di piccola e piccolissima dimensione (16). In montagna

risulta leggermente più elevata (41,2% vs 37,8%) anche la frequenza dei latti con acidità medio bassa compresi nella classe  $2,91 \div 3,20$  °SH/50ml.

L'attitudine del latte alla coagulazione presamica manifesta un'ampia variabilità (Tab. 2). Nel corso degli anni '90, la frequenza dei latti caratterizzati da buona reattività (tipo A) oscilla tra un minimo del 55% ed un massimo dell'84% circa. La frequenza di quelli a ridotta coagulabilità (tipo E) varia tra il 16% ed il 44% circa. Molto limitata, ma altrettanto variabile, risulta l'incidenza dei latti con gravi anomalie di coagulazione (tipo F). Inizialmente, fino al 1995, il latte manifesta nel complesso una discreta attitudine alla coagulazione. Successivamente, però, si registra un netto peggioramento fino al 1998, anno contraddistinto da una elevatissima frequenza di latti a ridotta coagulabilità (ca. 44% tipo E), soprattutto, come detto, a causa di sfavorevoli condizioni climatiche (13). I valori degli ultimi due anni risultano, invece, decisamente buoni (bassa frequenza di latti E ed F), comunque tali da indicare la tendenza ad un miglioramento del quadro complessivo della coagulabilità.

Più in generale, nel corso degli anni '90 l'incidenza media dei latti di tipo A (+B, C) risulta pari a 70% circa, quella dei latti tipo E a 29%, mentre i latti non idonei alla caseificazione (tipo F) rappresentano poco più dell'1%. Questa situazione appare analoga, comunque paragonabile, a quella prospettata nel corso degli anni '80 (2). Il confronto con le osservazioni di Annibaldi *et al.* (12), effettuate nel corso degli anni '70, sempre sulla base dei tipi lattodinamografici, porta invece a concludere, sia pure indicativamente, che nel tempo le caratteristiche di coagulazione del latte nel loro complesso si sono modificate in senso peggiorativo. Ciò troverebbe conferma in diverse indagini (17-20), anche sulla base delle modificazioni che hanno interessato i valori assoluti dei parametri  $r$ ,  $k_{20}$ ,  $a_{30}$ : aumento sensibile del tempo di coagulazione del latte e del tempo di rassodamento del coagulo, con riflessi negativi sulle caratteristiche reologiche della cagliata.

Il latte degli allevamenti di montagna presenta una attitudine alla coagulazione mediamente più favorevole (ca. 75% tipo A) rispetto a quella degli allevamenti di pianura (ca. 68% tipo A), rappresentati, in media, rispettivamente da 735 e da 2889 osservazioni/anno (Fig. 2). Per contro, tra i latti di montagna si registra una maggiore incidenza del tipo F (1,57%) rispetto alla pianura (1,03%); ciò in accordo con quanto detto a proposito dell'incidenza dei latti ipoacidi.

c) *Carica microbica, coliformi e spore anaerobiche di tipo butirrico.* - La proporzione dei latti aventi una carica microbica normale oscilla tra un minimo dell'87% ed un massimo del 91% circa (Tab. 3). L'andamento risulta sufficientemente regolare. I valori maggiormente favorevoli si collocano all'inizio ed alla fine del decennio; questi ultimi sono tali da indicare una certa tendenza al miglioramento. Il latte con carica microbica normale presenta un'incidenza media dell'89% circa, tutto sommato abbastanza favorevole, quello con carica microbica elevata si colloca intorno al 6%; mentre il latte con carica microbica elevatissima presenta un'incidenza del 5%, da ritenere abbastanza sfavorevole. Questi dati non si discostano in maniera significativa da quelli riportati nel corso degli anni '80 (2, 14), anch'essi riguardanti il latte prodotto in provincia di Parma. La proporzione del latte con carica microbica normale risulta mediamente più favorevole per gli allevamenti di pianura (ca. 90%) rispetto a quella che contraddistingue gli allevamenti di montagna (ca. 86%), rappresentati, in media, rispettivamente da 3086 e da 731 osservazioni/anno. Il dato si ripe-

Tabella 3 - Caratteristiche microbiologiche del latte prodotto durante gli anni 1990: carica microbica totale, coliformi e campioni positivi per le spore di clostridi butirrici.

*Table 3 - Microbiological characteristics of the milk produced during years 1990: total microbial count, coliforms and positive samples for butyric clostridia spores.*

		1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	Media
<i>Carica microbica tot. <sup>(2)</sup></i>												
- N, normale	%	91,29	90,31	87,72	86,96	87,54	89,28	87,67	87,40	90,25	90,66	88,91
- E, elevata	%	5,51	5,83	6,34	7,63	7,09	5,94	6,93	6,89	6,05	6,07	6,43
- EE, elevatissima	%	3,20	3,86	5,94	5,41	5,37	4,78	5,40	5,71	3,70	3,27	4,66
<i>Coliformi <sup>(2)</sup></i>												
	UFC/ml	6331	6779	5810	7127	2361	2709	3282	3118	1934	2785	4224
≤ 5000	%	90,13	90,15	90,79	88,60	96,86	95,81	94,39	94,06	96,31	95,79	93,29
5001-40000	%	6,50	6,60	6,17	7,60	2,31	3,34	4,34	5,07	3,36	3,15	4,84
> 40000	%	3,37	3,25	3,04	3,80	0,83	0,85	1,27	0,87	0,33	1,06	1,87
<i>Positivi spore clostridi <sup>(1)</sup></i>	%	8,98	10,01	10,85	12,46	14,98	16,99	19,01	18,97	21,45	17,77	15,15

(1) 2 prelievi di latte al mese per ciascun allevamento (vedi tab.1); 2 monthly milk collections for each herd (see Table 1).

(2) 1 prelievo di latte al mese per ciascun allevamento (vedi tab.1); 1 monthly milk collection for each herd (see Table 1).

te nel corso dell'intero decennio. In effetti, il latte prodotto presso gli allevamenti di montagna risulta mediamente caratterizzato da una maggiore percentuale (ca. 7%) di campioni con elevatissima carica microbica rispetto a quello di pianura (ca. 4%).

Il fenomeno descritto, tuttavia, non sembra coinvolgere, anche per la discrepanza dei valori assoluti, l'inquinamento da microrganismi di origine fecale, legato alla conduzione igienica delle operazioni di mungitura (Tab. 3). Nel complesso, infatti, il 93% dei campioni di latte di massa presenta un contenuto di coliformi inferiore o uguale a 5000 UFC/ml e ciò si verifica in ugual misura sia tra i lattini di pianura che tra quelli di montagna. Peraltro, anche l'incidenza della classe con più di 40000 UFC/ml, di per sé abbastanza limitata, risulta tale da non consentire alcuna distinzione tra i lattini delle due zone altimetriche (1,96% pianura vs 2,02% montagna). L'inquinamento da coliformi risulta mediamente pari a 4224 UFC/ml di latte. L'andamento del fenomeno è tale da contraddistinguere l'intero periodo in due fasi nettamente differenziate, in quanto ai valori elevati dei primi quattro anni (ca. 6500 UFC/ml) fanno seguito valori mediamente più contenuti (ca. 2700 UFC/ml), tali da indicare una tendenza alla riduzione di questa forma di inquinamento (Fig. 2), anche in conseguenza dell'introduzione della pratica del raffreddamento del latte alla stalla (bidone, ca. 24°C; cisterna, ca. 20°C). I dati osservati, rispetto a quelli pubblicati negli anni '80 (2, 14), indicano una situazione maggiormente favorevole circa l'incidenza del latte avente un contenuto di batteri coliformi superiore a 40000 UFC/ml.

Per contro, nel corso del decennio si registra un netto peggioramento per quanto riguarda l'inquinamento del latte da spore anaerobiche di tipo butirrico (Tab. 3). Questo appare tale da avvalorare un certo incremento delle forme di scarto che si ritiene si sia verificato nel corso degli ultimi anni, a causa dell'insorgenza di difetti di gonfiore tardivo e, più recentemente, anche di gonfiore precoce. In effetti, la frequenza dei campioni "positivi" alla ricerca delle spore di clostridi butirrici, di per sé abbastanza preoccupante, risulta più elevata nel corso degli ultimi 5 anni (ca. 19%) rispetto ai primi 5 (ca. 11%); ciò a significare una tendenza peggiorativa del fenomeno nel suo complesso. Tale indicazione emerge anche dal confronto omogeneo con i dati osservati nel corso degli anni '80 (2, 14). Il fatto interessa in egual misura sia i lattini prodotti in pianura che quelli prodotti in montagna (Fig. 2).

### *Conclusioni*

La valutazione complessiva dei risultati dell'indagine consente di fare alcune considerazioni circa l'andamento delle principali caratteristiche chimico-fisiche, tecnologiche e microbiologiche del latte prodotto in provincia di Parma durante gli anni novanta, le cui modificazioni, in certi casi, appaiono tali da acquisire un preciso significato in rapporto ai requisiti caseari previsti per la trasformazione in Parmigiano-Reggiano.

Tra le indicazioni di carattere positivo sono da segnalare: un discreto incremento del contenuto di caseina, specie nella seconda metà del periodo; una certa stabilità dei valori medi annui del contenuto di cellule somatiche, però con tendenza finale alla diminuzione; una chiara tendenza ad un minore inquinamento da coliformi. Le caratteristiche di coagulazione, pur risultando nel loro complesso meno favorevoli

rispetto a quelle degli anni settanta, verso la fine degli anni novanta manifestano una certa tendenza ad un discreto miglioramento.

Tra le indicazioni di carattere negativo spicca il progressivo e netto aumento del grado di inquinamento da spore anaerobiche di tipo butirrico, anche con riferimento alla situazione degli anni settanta-ottanta; il fenomeno interessa in egual misura sia il latte degli allevamenti di pianura che di montagna. I valori dell'acidità titolabile, abbastanza costanti nel corso del decennio, risultano mediamente inferiori rispetto a quelli degli anni settanta-ottanta, a sottolineare la tendenza di tale caratteristica ad un progressivo peggioramento.

**Parole chiave:** Latte, proprietà casearie, caseina, coagulabilità, spore clostridi, variazioni anni 1990, Parmigiano-Reggiano

**Key words:** Bovine milk, cheesemaking properties, casein content, rennetability, *clostridia* spores, 1990 years variations, Parmigiano-Reggiano cheese

**RIASSUNTO** - Sono state studiate le variazioni delle principali caratteristiche chimico-fisiche, tecnologiche e microbiologiche del latte prodotto in provincia di Parma durante gli anni 1990. L'indagine, condotta su campioni di latte di massa, ha interessato da un minimo di 227 ad un massimo di 432 allevamenti controllati 1 o 2 volte al mese, a seconda delle caratteristiche.

Il contenuto di caseina è risultato mediamente pari a 2,375 g per 100g; nella seconda parte del decennio sono stati registrati valori più elevati rispetto alla prima. Il latte degli allevamenti di montagna è risultato più ricco di caseina (ca. 2,40%) rispetto a quello di pianura (ca. 2,37%). Per il grasso, mediamente pari a 3,634 g per 100g, è stato osservato un andamento irregolare; i valori della montagna (ca. 3,69%) sono risultati superiori a quelli della pianura (ca. 3,63%).

Il contenuto di cellule somatiche, mediamente pari a 353000 unità per ml, è risultato più elevato nel latte di pianura (359000) rispetto a quello di montagna (315000). I valori dell'acidità titolabile, mediamente pari a 3,20 °SH per 50 ml - inferiori rispetto a quelli degli anni ottanta - sono risultati più bassi per il latte di montagna (3,18 °SH) rispetto a quelli di pianura (3,21 °SH), a causa di una maggiore incidenza percentuale di latte ipoacido. La coagulabilità è risultata leggermente più favorevole per il latte di montagna (ca. 75% tipo A) rispetto a quello di pianura (ca. 68% tipo A); mentre l'incidenza percentuale dei latti a coagulazione anomala (tipo F) è stata superiore tra i latti di montagna. Alla fine del decennio, le caratteristiche di coagulazione hanno fatto registrare un certo miglioramento; nel complesso, però, esse sono risultate peggiorative rispetto a quelle degli anni settanta-ottanta.

Per i 3 parametri microbiologici sono stati osservati andamenti tra loro nettamente differenziati: variazioni non rilevanti per la carica microbica totale; netta tendenza ad una riduzione dell'inquinamento da coliformi; progressivo e significativo incremento delle spore anaerobiche di tipo butirrico (ca. 15% campioni positivi) sia per la pianura che per la montagna.

**SUMMARY** - *Observations on the trends of the main dairy-characteristics of Parmigiano-Reggiano cheese milk during the years 1990.*

The variations of the main physico-chemical, technological and microbiological characteristics of milk produced in the Parma province during the years 1990 were

studied. The survey, carried out on herd bulk milk samples, interested from a *minimum* of 227 to a *maximum* of 432 herds, monitored once or twice per month second the characteristics.

The average casein content resulted 2.375 g/100g; higher values were registered in the second part of the *decennium* with respect to the first part. Mountain herd milk resulted richer of casein (about 2.40%) than plain one (about 2.37%). As far as fat content, on average equal to 3.634 g/100g, an irregular trend was observed; mountain average value (about 3.69%) resulted higher than plain one (about 3.63%).

Somatic cell count, on average equal to 353000 units/ml, resulted higher for plain milk (359000) in comparison to mountain one (315000). Titratable acidity values, on average equal to 3.20 °SH/50 ml - lower in comparison to the eighties - resulted lower for mountain milk (3.18 °SH) than for plain one (3.21 °SH), because of a greater percentage incidence of hypoacid milk. The rennetability resulted fairly more favourable for mountain milk (about 75% A type) than for plain one (about 68% A type), whereas the percentage incidence of milks with abnormal rennetability (F type) was higher for the former. At the end of the *decennium* coagulation characteristics registered a certain improvement, but however they were worse in comparison to the seventies and the eighties.

As far as the 3 microbiological parameters, clearly different trends were observed: no relevant variations regarding the total bacterial count; a clear reduction of coliforms pollution; progressive and significant increase of anaerobic *clostridia* spores (about 15% of "positive" samples) either for plain and mountain milk.

*Ringraziamenti:* Lavoro eseguito nell'ambito del programma di sperimentazione della regione Emilia Romagna, realizzato con il coordinamento tecnico-organizzativo del Centro Ricerche Produzioni Animali (CRPA spa) di Reggio Emilia.

### *Bibliografia*

1) MARIANI P. (1988) - Fattori genetici, proprietà tecnologico-casearie e resa del latte in formaggio grana. Atti Convegno "La trasformazione del latte in grana: tecnologie e qualità"; Fiera millenaria, Gonzaga, MN, 4 settembre 1988, pp 9-30, Agropolis, Arti grafiche Chiribella MN.

2) PECORARI M. (1988) - Caratteristiche qualitative del latte per Parmigiano Reggiano con particolare riferimento agli aspetti microbiologici. Atti giornate studio "Il ruolo del medico veterinario nell'azienda produttrice di latte per Parmigiano-Reggiano", 2-9-16-23 marzo 1988, C.L.C.-C.F.P.R.-O.M.V., Parma.

3) RD n. 994 del 9-5-1929 - Regolamento sulla vigilanza igienica del latte destinato al consumo diretto. GU n. 146 del 24-6-1929.

4) DPR n. 1504 del 11-8-1963 - Vigilanza igienica del latte destinato al consumo diretto: modificazioni artt. 16 e 45 RD 9-5-1929. GU n. 302 del 20-11-1963.

5) DM n. 184 del 9-5-1991 - Regolamento concernente le condizioni di produzione zootecnica, requisiti di composizione ed igienico-sanitari del latte crudo destinato alla utilizzazione per la produzione del latte alimentare trattato termicamente: attuazione L. n. 169 del 3-5-1989. GU n. 142 del 19-6-1991.

- 6) DPR n. 54 del 14-1-1997 - Regolamento recante attuazione delle direttive 92/46 e 92/47/CEE in materia di produzione e immissione sul mercato del latte e di prodotti a base di latte. GU n. 59 del 12-3-1997.
- 7) SAVINI E. (1946) - Analisi del latte e dei latticini. Ed. Hoepli, Milano.
- 8) BIGGS D.A. (1978) - Instrumental infrared estimation of fat, protein and lactose in milk: collaborative study. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, *61*, 1015-1034.
- 9) SCHMIDT-MADSEN P. (1975) - Fluoro-opto-electronic cell-counting on milk. *J. Dairy Res.*, *42*, 227-239.
- 10) AITeL, Associazione Italiana Tecnici del Latte (1978) - Latte e prodotti lattieri, conta dei batteri coliformi. Norme FIL-IDF. Parte 2<sup>a</sup>, 198-214, Ed. La Nazionale, Parma.
- 11) ANNIBALDI S. (1969) - Modificazione della prova di Weinzirl per la ricerca dei clostridi butirrici nel latte. *Sci. Tecn. Latt.-Cas.*, *20*, nt, 75-79.
- 12) ANNIBALDI S., FERRI G., MORA R. (1977) - Nuovi orientamenti nella valutazione tecnica del latte: tipizzazione lattodinamografica. *Sci. Tecn. Latt.-Cas.*, *28*, 115-126.
- 13) SUMMER A., FORMAGGIONI P., TOSI F., FOSSA E., MARIANI P. (1999) - Effects of the humid climate on rennet-coagulation properties of milk produced during summer months of 1998 and relationships with the housing systems in the rearing of Italian Friesian cows. *Ann. Fac. Med. Vet. di Parma*, *19*, 167-179.
- 14) PECORARI M. (1984) - Qualità del latte: situazione attuale e prospettive di miglioramento. Atti convegno "Qualità del latte, tecnologie e ricerca nella produzione del Parmigiano-Reggiano", Centro Lattiero Caseario, Parma.
- 15) MARIANI P. (1988) - Attitudine del latte alla coagulazione presamica: il ruolo dell'acidità nella produzione del Parmigiano-Reggiano. Atti giornate studio "Il ruolo del medico veterinario nell'azienda produttrice di latte per Parmigiano-Reggiano", 2-9-16-23 marzo 1988, C.L.C.-C.F.P.R.-O.M.V., Parma.
- 16) SALGHETTI A. (2000) - Evoluzione e prospettive delle aziende agricole parmensi tra secondo e terzo millennio. Ed. Laserprint, Parma.
- 17) FOSSA E., PECORARI M., MARIANI P. (1984) - Variazioni stagionali dell'acidità e delle caratteristiche di coagulazione del latte. *Ind. Latte*, *20*(1), 87-97.
- 18) MARIANI P., ZANZUCCHI G., BONATTI P., PECORARI M. (1990) - Variazioni dell'acidità titolabile e delle caratteristiche di coagulazione del latte in vacche frisone primipare e pluripare e rapporti con il contenuto di cellule somatiche. *Ann. Fac. Med. Vet. di Parma*, *10*, 297-307.
- 19) MARIANI P., ZANZUCCHI G., PECORARI M., FOSSA E. (1991) - Variazioni dell'acidità e del tempo di coagulazione del latte in rapporto all'allevamento e alla stagione di produzione. *Ann. Fac. Med. Vet. di Parma*, *11*, 277-289.
- 20) MARIANI P., BONATTI P., SANDRI S. (1992) - Contenuto di urea, pH, acidità titolabile e caratteristiche di coagulazione del latte di singoli allevamenti. *Ind. Latte*, *28*(3-4), 3-17.

## COMPOSIZIONE IN ACIDI GRASSI DEL GRASSO DEL LATTE DI QUATTRO RAZZE BOVINE ALLEVATE NELLA ZONA DI PRODUZIONE DEL PARMIGIANO-REGGIANO

M. Malacarne<sup>1</sup>, A. Summer<sup>1</sup>, P. Formaggioni<sup>1</sup>, P. Franceschi<sup>1</sup>, P. Mariani<sup>1</sup>

### *Introduzione*

La composizione acidica del grasso del latte varia in rapporto all'influenza di diversi fattori legati all'animale e all'ambiente (1-4). Tra questi ultimi, numerosi e molto importanti sono quelli di natura alimentare (5-9): tipo di razione; modalità di somministrazione; concentrazione energetica e livello energetico della razione; stato fisico degli alimenti e dell'intera razione; quantità, qualità e lunghezza della fibra; tipo, forma fisica e trattamento dei cereali; *etc.* L'impiego degli oli e dei grassi protetti e dei saponi di calcio riveste un ruolo di peculiare significato fisiologico, che può esitare in radicali mutamenti della composizione acidica del grasso (10-13) con riferimento al grado di protezione ed alla natura degli ingredienti utilizzati.

Particolarmente significative, inoltre, sono le variazioni legate allo stato fisiologico della vacca (14-17), specie con riferimento alle variazioni di alcuni acidi grassi (es: acido oleico, linoleico e linolenico), nel confronto tra le fasi iniziali e la fase finale della lattazione (18).

Differenze di composizione acidica del grasso sono state osservate anche tra i lattici di diverse razze (2, 19-24). Per gli acidi grassi del grasso del latte di Frisone, ad esempio (25), sono stati calcolati coefficienti di ereditabilità variabili tra 0,03 per l'acido miristico e 0,81 per l'acido caprilico.

L'obiettivo della ricerca è stato quello di studiare la composizione in acidi grassi del grasso del latte delle vacche di razza Frisone italiana, Bruna, Reggiana e Modenese destinato alla produzione di formaggio Parmigiano-Reggiano.

### *Materiali e metodi*

La ricerca è stata condotta su campioni di latte di massa di 40 allevamenti, di cui 10 di vacche di razza Frisone italiana (FI), 10 di Bruna (BI), 10 di Reggiana (RG) e 10 di Modenese, situati nel comprensorio di produzione del Parmigiano-Reggiano. Si è operato su allevamenti di piccola e media dimensione (consistenza vacche: 29,3 FI, 27,3 BI, 15,6 RG e 11,8 MO vacche) delle province di Parma (FI e BI), Reggio Emilia (RG) e Modena (MO).

---

<sup>1</sup> Scienze Zootecniche e Qualità delle Produzioni Animali - Dipartimento di Produzioni Animali, Biotecnologie Veterinarie, Qualità e Sicurezza degli Alimenti - Università degli Studi; Via del Taglio 8, 43100 Parma.

Presso ciascun allevamento sono stati effettuati due sopralluoghi durante il periodo autunnale, nei mesi di settembre, ottobre (in prevalenza) e novembre, raccogliendo 20 campioni di latte di massa per ciascuna razza, le cui vacche, in base ai dati rilevati in corrispondenza del prelievo, sono risultate mediamente caratterizzate da uno stadio di lattazione poco dissimile (mesi: 7,4 FI, 7,2 BI, 6,7 RG e 6,9 MO). Le vacche erano prevalentemente alimentate con foraggi freschi ed essiccati di erba medica e di prato polifita e con l'impiego di moderate, ma variabili, quantità di concentrati preparati secondo le modalità previste dal regolamento di produzione del latte per Parmigiano-Reggiano. Il 55% circa dei campioni di latte sono risultati contraddistinti da una alimentazione fondamentalmente a base di foraggio di medica, il 25% di prato stabile ed il resto da alimentazione mista. Le razioni a base di medica, rispetto a quelle di prato stabile, sono risultate distribuite secondo rapporti variabili da razza a razza, indicativamente 3,5:1 per FI, 1,9:1 per BI, 2,5:1 per RG e 2,5:1 per MO.

Complessivamente sono stati prelevati ed analizzati, in triplo, 80 campioni di latte di massa, 20 per razza, ciascuno rappresentativo dell'intera produzione della mungitura del mattino. Il grasso è stato estratto con etere etilico ed etere di petrolio secondo la metodica Mojennier modificata (26). La determinazione degli acidi grassi è stata effettuata mediante gascromatografia capillare degli esteri metilici. La derivatizzazione degli acidi grassi è stata fatta seguendo le indicazioni di Knapp (27), con l'uso di acido tridecanoico come standard interno. Si è operato con gascromatografo PU4400 munito di colonna SP(TM)2330 Supelco di 30 m (i.d. 0,25 mm; d.f. 0,20 ?m) nelle seguenti condizioni: carrier Elio 1 ml/min; temperatura iniziale colonna 80 °C (8 °C/min fino a 260 °C, isoterma 20 min); iniettore PTV 80-250 °C; detector FID 300 °C; tempo analisi 35 minuti; il calcolo dei singoli acidi grassi è stato fatto utilizzando la tecnica dello standard esterno.

I dati sono stati sottoposti ad analisi della varianza mediante ANOVA con verifica dell'omogeneità delle varianze mediante test di Levene applicando il pacchetto operativo SPSS (per Windows versione 10.0.6 del 1999).

### *Risultati e discussione*

I valori medi e le corrispondenti misure di dispersione della ripartizione percentuale degli acidi grassi del grasso del latte delle vacche di razza Frisona italiana, Bruna, Reggiana e Modenese sono riportati, rispettivamente, nelle tabelle 1, 2, 3 e 4, mentre nelle tabelle 5 e 6 sono illustrati i confronti statistici per i singoli e per raggruppamenti di acidi grassi.

a) *Variabilità della composizione acidica del grasso* - In tutti i lattati il componente principale è l'acido palmitico, che rappresenta il 30% in peso degli acidi grassi totali. I suoi valori si contraddistinguono per una variabilità moderata, compresa tra il 7% (MO) ed il 12% (BI). Il valore minimo ricade tra quelli del latte delle vacche di razza Bruna (ca. 25%) e quello massimo nell'ambito dei lattati della Frisona italiana (ca. 39%). L'acido oleico, secondo per importanza, rappresenta circa il 23% in peso degli acidi grassi totali e manifesta una variabilità poco dissimile (8% RG ÷ 13% MO) rispetto a quella dell'acido palmitico. I valori osservati oscillano tra un minimo del 14% circa (MO) ed un massimo del 31% circa (BI).

Tabella 1 – Composizione in acidi grassi (p/p) del grasso del latte delle vacche di razza Frisona italiana. 10 allevamenti; 2 prelievi per allevamento; 20 campioni di latte di massa.

*Table 1 – Fatty acids composition (w/w) of milk fat from Italian Friesian cows. 10 dairy herds; 2 samplings for each herd; 20 herd milk samples.*

		Media <i>Mean</i>	DS <i>SD</i>	CV % <i>CV %</i>	<i>Min.</i>	<i>Max.</i>
C <sub>4:0</sub>	Butirrico	3,91	0,64	16,28	2,46	4,86
C <sub>6:0</sub>	Caproico	2,53	0,36	14,35	1,90	3,62
C <sub>8:0</sub>	Caprilico	1,28	0,19	15,09	0,99	1,70
C <sub>10:0</sub>	Caprico	3,14	0,44	14,14	2,47	4,65
C <sub>12:0</sub>	Laurico	3,91	0,66	16,91	2,60	5,51
C <sub>14:0</sub>	Miristico	12,11	1,46	12,02	9,34	14,79
C <sub>16:0</sub>	Palmitico	32,25	3,26	10,09	26,13	39,45
C <sub>16:1</sub>	Palmitoleico	2,46	0,34	13,63	1,86	3,05
C <sub>18:0</sub>	Stearico	11,37	2,12	18,65	7,60	15,90
C <sub>18:1</sub>	Oleico	22,63	2,80	12,38	17,87	27,39
C <sub>18:2</sub>	Linoleico	2,61	0,52	20,09	1,86	3,89
C <sub>18:3</sub>	Linolenico	1,80	0,24	13,12	1,39	2,15

Tabella 2 – Composizione in acidi grassi (p/p) del grasso del latte delle vacche di razza Bruna italiana. 10 allevamenti; 2 prelievi per allevamento; 20 campioni di latte di massa.

*Table 2 – Fatty acids composition (w/w) of milk fat from Italian Brown cows. 10 dairy herds; 2 samplings for each herd; 20 herd milk samples.*

		Media <i>Mean</i>	DS <i>SD</i>	CV % <i>CV %</i>	<i>Min.</i>	<i>Max.</i>
C <sub>4:0</sub>	Butirrico	4,20	0,90	21,55	2,61	5,95
C <sub>6:0</sub>	Caproico	2,64	0,50	18,90	1,90	3,84
C <sub>8:0</sub>	Caprilico	1,26	0,23	18,49	0,99	1,73
C <sub>10:0</sub>	Caprico	3,12	0,56	17,85	2,20	4,44
C <sub>12:0</sub>	Laurico	3,62	0,76	21,09	2,65	5,16
C <sub>14:0</sub>	Miristico	12,21	1,39	11,40	9,47	16,17
C <sub>16:0</sub>	Palmitico	29,78	3,43	11,50	25,15	38,04
C <sub>16:1</sub>	Palmitoleico	2,25	0,31	13,50	1,69	2,73
C <sub>18:0</sub>	Stearico	11,71	1,72	14,70	8,28	15,26
C <sub>18:1</sub>	Oleico	24,55	3,21	13,07	17,19	30,53
C <sub>18:2</sub>	Linoleico	2,72	0,54	19,71	1,29	3,54
C <sub>18:3</sub>	Linolenico	1,94	0,28	14,47	1,46	2,64

Tabella 3 – Composizione in acidi grassi (p/p) del grasso del latte delle vacche di razza Reggiana. 10 allevamenti; 2 prelievi per allevamento; 20 campioni di latte di massa.

*Table 3 – Fatty acids composition (w/w) of milk fat from Reggiana cows. 10 dairy herds; 2 samplings for each herd; 20 herd milk samples.*

		Media <i>Mean</i>	DS <i>SD</i>	CV % <i>CV %</i>	<i>Min.</i>	<i>Max.</i>
C <sub>4:0</sub>	Butirrico	3,87	1,23	31,87	2,44	7,88
C <sub>6:0</sub>	Caproico	2,53	0,50	19,52	1,93	4,21
C <sub>8:0</sub>	Caprilico	1,23	0,16	12,86	0,98	1,63
C <sub>10:0</sub>	Caprico	3,10	0,38	12,18	2,43	3,75
C <sub>12:0</sub>	Laurico	3,65	0,49	13,41	2,85	4,51
C <sub>14:0</sub>	Miristico	12,29	1,04	8,43	10,54	15,19
C <sub>16:0</sub>	Palmitico	31,26	2,64	8,43	26,31	36,56
C <sub>16:1</sub>	Palmitoleico	2,55	0,31	12,04	2,01	3,08
C <sub>18:0</sub>	Stearico	11,32	1,36	12,04	8,99	14,52
C <sub>18:1</sub>	Oleico	23,64	1,84	7,79	20,38	26,16
C <sub>18:2</sub>	Linoleico	2,66	0,44	16,71	1,63	3,42
C <sub>18:3</sub>	Linolenico	1,90	0,22	11,54	1,49	2,29

Tabella 4 – Composizione in acidi grassi (p/p) del grasso del latte delle vacche di razza Modenese. 10 allevamenti; 2 prelievi per allevamento; 20 campioni di latte di massa.

*Table 4 – Fatty acids composition (w/w) of milk fat from Modenese cows. 10 dairy herds; 2 samplings for each herd; 20 herd milk samples.*

		Media <i>Mean</i>	DS <i>SD</i>	CV % <i>CV %</i>	<i>Min.</i>	<i>Max.</i>
C <sub>4:0</sub>	Butirrico	4,28	1,12	26,14	2,61	7,21
C <sub>6:0</sub>	Caproico	2,63	0,48	18,35	1,92	4,17
C <sub>8:0</sub>	Caprilico	1,31	0,16	12,48	0,99	1,7
C <sub>10:0</sub>	Caprico	3,31	0,59	17,77	2,65	4,83
C <sub>12:0</sub>	Laurico	3,85	0,54	13,94	2,89	4,88
C <sub>14:0</sub>	Miristico	12,77	1,63	12,76	10,7	17,08
C <sub>16:0</sub>	Palmitico	30,61	2,23	7,28	27,82	34,99
C <sub>16:1</sub>	Palmitoleico	2,52	0,38	15,25	1,87	3,54
C <sub>18:0</sub>	Stearico	11,33	1,26	11,10	8,49	13,39
C <sub>18:1</sub>	Oleico	23,44	3,15	13,43	13,80	28,29
C <sub>18:2</sub>	Linoleico	2,11	0,50	23,60	1,35	3,31
C <sub>18:3</sub>	Linolenico	1,84	0,34	18,46	1,33	2,45

Tra gli acidi grassi saturi, le componenti quantitativamente più basse sono rappresentate dagli acidi capronico, caprilico e caprinico (1,2 ÷ 3,3%), le cui quote risultano mediamente più variabili (14 ÷ 19%) rispetto a quelle dei due precedenti acidi grassi. L'acido butirrico risulta caratterizzato da una variabilità mediamente più elevata (ca. 24%), soprattutto tra i lattici delle vacche di razza Reggiana e Modenese.

Tra gli insaturi, le quote quantitativamente più basse sono rappresentate dagli acidi palmitoleico (ca. 2,5%), linoleico (ca. 2,6%) e linolenico (ca. 1,8%); quest'ultimo maggiormente legato, entro certi limiti, alla quantità ed alla natura della componente foraggera della razione (28). I due acidi polinsaturi, sia come tali sia come precursori, sono considerati di notevole importanza nell'alimentazione umana, in quanto in grado di svolgere un ruolo metabolico, funzionale e strutturale essenziale in diversi processi biometabolici basilari per il mantenimento di un ottimo stato di salute (29).

L'acido miristico, di sintesi mammaria come tutti gli acidi grassi a corta catena, così come lo stearico, rappresentano quote intermedie significative (circa 11-12%) e sono caratterizzati da una moderata variabilità.

Il profilo degli acidi grassi nel suo complesso trova riscontro in altre osservazioni descritte in letteratura, con riferimento a quelle riguardanti il latte di produzione nazionale (30-33). I valori proporzionali ponderali dei principali acidi grassi, qui riferiti indicativamente a circa 7 mesi di lattazione, trovano riscontro in analoghe ricerche specificamente rapportate allo stato fisiologico delle vacche (14).

*b) Confronto tra i lattici delle 4 razze* - I grassi dei lattici delle vacche di razza Frisona italiana, Bruna, Reggiana e Modenese manifestano una composizione acidica simile per quanto riguarda la maggior parte dei 12 componenti presi in esame (Tab. 5). Non si osservano differenze statisticamente significative per gli acidi grassi saturi di sintesi mammaria, vale a dire butirrico (3,87% RG vs 4,28% MO), capronico (2,53% FI vs 2,64% BI), caprilico (1,23% RG vs 1,30% MO), caprinico (3,10% RG vs 3,31% MO), laurico (3,62% BI vs 3,91% FI) e miristico (12,11% FI vs 12,77% MO). Lo stesso si verifica per due acidi grassi di provenienza ematica, uno saturo ed uno insaturo, precisamente l'acido stearico (11,32% RG vs 11,71% BI) e l'acido linolenico (1,80% FI vs 1,94% BI).

Per contro, si riscontrano alcune differenze statisticamente significative a carico di 4 acidi grassi, di cui 3 insaturi di provenienza ematica (compreso l'oleico), ed uno saturo, il palmitico, probabilmente di origine mista. Il contenuto in acido palmitico del grasso del latte delle vacche di razza Frisona italiana risulta significativamente più elevato rispetto a quello della Bruna (32,25% FI vs 29,78% BI;  $P < 0,01$ ), mentre i valori della Reggiana (31,26%) e della Modenese (30,60%) si collocano in posizione intermedia. Per l'acido oleico, tra le razze Frisona e Bruna si registra una differenza di entità analoga, ma di segno opposto. Questo acido monoinsaturo, infatti, risulta significativamente più presente nel grasso del latte delle vacche di razza Bruna rispetto alla Frisona italiana (24,55% BI vs 22,63% FI;  $P < 0,05$ ). La proporzione di acido palmitoleico risulta significativamente più elevata nel grasso del latte delle vacche di razza Reggiana (2,55%) e Modenese nei confronti della Bruna (2,26%), mentre il valore della Frisona italiana risulta intermedio.

Il grasso di tutti e quattro i lattici, infine, differisce significativamente per il contenuto di acido linoleico, che risulta significativamente più elevato nella Bruna (2,72%)

Tabella 5 – Composizione in acidi grassi (p/p) del grasso del latte delle vacche di razza Frisona italiana, Bruna, Reggiana e Modenese. 40 allevamenti; 2 prelievi per allevamento; 80 campioni di latte di massa.

*Table 5 – Fatty acids composition (w/w) of milk fat from Italian Friesian, Italian Brown, Reggiana and Modenese cows. 40 dairy herds; 2 samplings for each herd; 80 herd milk samples.*

		Frisona italiana <i>Italian Friesian</i>	Bruna <i>Italian Brown</i>	Reggiana <i>Reggiana</i>	Modenese <i>Modenese</i>
Allevamenti	<i>no.</i>	10	10	10	10
<i>Dairy herds</i>					
Osservazioni	<i>no.</i>	20	20	20	20
<i>Observations</i>					
C <sub>4:0</sub>	Butirrico	3,92	4,20	3,87	4,28
C <sub>6:0</sub>	Caproico	2,53	2,64	2,54	2,63
C <sub>8:0</sub>	Caprilico	1,28	1,26	1,23	1,30
C <sub>10:0</sub>	Caprico	3,14	3,12	3,10	3,31
C <sub>12:0</sub>	Laurico	3,91	3,62	3,65	3,85
C <sub>14:0</sub>	Miristico	12,11	12,21	12,29	12,77
C <sub>16:0</sub>	Palmitico	32,25 B	29,78 A	31,26 AB	30,60 AB
C <sub>16:1</sub>	Palmitoleico	2,46 AaBb	2,26 Aa	2,55 Bb	2,52 ABb
C <sub>18:0</sub>	Stearico	11,37	11,71	11,32	11,33
C <sub>18:1</sub>	Oleico	22,63 a	24,55 b	23,64 a	23,44 a
C <sub>18:2</sub>	Linoleico	2,61 B	2,72 B	2,66 B	2,11 A
C <sub>18:3</sub>	Linolenico	1,80	1,94	1,90	1,84

a, b: a lettere diverse corrispondono medie significativamente differenti per  $P < 0,05$ ;  
a, b: *mean values with different letters differ significantly for  $P < 0,05$* ;  
A, B: a lettere diverse corrispondono medie significativamente differenti per  $P < 0,01$ ;  
A, B: *mean values with different letters differ significantly for  $P < 0,01$* ;

e, a scalare, nella Reggiana (2,66%) e nella Frisona italiana (2,61%), mentre il valore più basso corrisponde al latte delle vacche di razza Modenese (2,11%).

Nella tabella 6 gli acidi grassi sono stati raggruppati in base alla loro origine ed alle loro principali proprietà. Gli acidi grassi saturi nel loro complesso risultano proporzionalmente più elevati nella Frisona e più bassi nella Bruna e viceversa si verifica per gli acidi grassi insaturi, con uno scarto di circa 2 unità percentuali. Nella Modenese prevalgono sia i volatili solubili che quelli insolubili, mentre entrambe le categorie risultano meno rappresentate nel grasso del latte della Reggiana. La differenza osservata per l'acido palmitico, preso singolarmente (Tab. 5), si ripercuote anche sulla sommatoria C<sub>14:0</sub>, C<sub>16:0</sub> e C<sub>18:0</sub>; il cui valore risulta significativamente più elevato nella Frisona (55,73% FI vs 53,70% BI;  $P < 0,05$ ). Per contro, gli acidi grassi monoinsaturi, come pure quelli polinsaturi, tendono a prevalere nel grasso del latte delle vacche di razza Bruna, i secondi anche in modo statisticamente significativo (4,66% BI vs 3,95% MO;  $P < 0,01$ ).

Tabella 6 – Composizione in acidi grassi saturi ed insaturi (p/p) del grasso del latte delle vacche di razza Frisona italiana, Bruna, Reggiana e Modenese. 40 allevamenti; 2 prelievi per allevamento; 80 campioni di latte di massa.

Table 6 – Saturated and unsaturated fatty acids composition (w/w) of milk fat from Italian Friesian, Italian Brown, Reggiana and Modenese cows. 40 dairy herds; 2 samplings for each herd; 80 herd milk samples.

	Frisona italiana <i>Italian Friesian</i>	Bruna <i>Italian Brown</i>	Reggiana <i>Reggiana</i>	Modenese <i>Modenese</i>
Allevamenti <i>Dairy herds</i>	<i>no.</i> 10	10	10	10
Osservazioni <i>Observations</i>	<i>no.</i> 20	20	20	20
Ac. grassi saturi: <i>Saturated fatty acids:</i>				
- volatili solubili C <sub>4:0</sub> , C <sub>6:0</sub>	6,45±0,90	6,84±1,28	6,40±1,68	6,90±1,50
- volatili insolubili C <sub>8:0</sub> , C <sub>10:0</sub> , C <sub>12:0</sub>	8,33±1,20	8,00±1,45	7,98±0,86	8,46±1,17
- Fissi C <sub>14:0</sub> , C <sub>16:0</sub> , C <sub>18:0</sub>	55,73±2,31 b	53,70±2,93 a	54,87±2,16 ab	54,70±2,43 ab
Ac. grassi insaturi: <i>Unsaturated fatty acids:</i>				
- monoinsaturi C <sub>16:1</sub> , C <sub>18:1</sub>	25,09±2,90	26,80±4,35	26,19±1,88	25,96±3,30
- poliinsaturi PUFA C <sub>18:2</sub> , C <sub>18:3</sub>	4,40±0,73 Ab	4,66±0,75 Bb	4,56±0,57 Bb	3,95±0,66 Aa

a, b: a lettere diverse corrispondono medie significativamente differenti per P<0,05;  
a, b: *mean values with different letters differ significantly for P<0.05*;  
A, B: a lettere diverse corrispondono medie significativamente differenti per P<0,01;  
A, B: *mean values with different letters differ significantly for P<0.01*;

Le differenze osservate tra le quattro razze risultano di entità moderata, analogamente a quelle riportate in altre ricerche (34); si tratta, comunque, di differenze ritenute tali da poter influenzare le proprietà manifatturiere del grasso del latte (34). Differenze di maggiore entità sono state riscontrate da Dos Santos (35), tra Holstein, Guernsey e Jersey, quest'ultima produttrice di grasso che è risultato molto più ricco di acido palmitico (ca. 49%) e più povero di acido oleico (ca. 16%) e, soprattutto, di acido stearico (ca. 7%). In ogni caso, le differenze osservate nella presente e in ricerche simili, a causa delle diversificate condizioni di alimentazione e di quelle ambientali propriamente dette, non possono essere attribuite che solo parzialmente all'intervento diretto di fattori di natura genetica, cosa che, invece, in adeguate condizioni sperimentali, è stata dimostrata, almeno per alcuni o per gruppi di acidi grassi (36-38), similmente a quanto si verifica normalmente, in maniera molto più marcata, nel confronto tra i latti delle diverse specie (39).

## Conclusioni

La composizione in acidi grassi del grasso del latte varia da razza a razza. Le variazioni tra i latti delle razze Frisona italiana, Bruna, Reggiana e Modenese risultano di entità per lo più moderata.

Per alcuni acidi grassi, però, si registrano differenze statisticamente significative. Ad esempio, quelle che riguardano l'acido palmitico e l'acido oleico, le due componenti quantitativamente più rappresentative; si tratta di differenze per le quali è possibile ipotizzare un eventuale interesse anche nell'ambito dei processi lipolitici che si svolgono nel corso del lungo periodo di stagionatura del formaggio Parmigiano-Reggiano. Tuttavia, le condizioni sperimentali, in senso stretto, non sono sufficientemente adeguate per poter affermare che tali differenze siano legate all'intervento diretto di fattori di ordine genetico.

**Parole chiave:** Razze bovine, latte, composizione grasso, acidi grassi

**Key words:** Cattle breeds, milk, fat composition, fatty acids

**RIASSUNTO** - È stata studiata la composizione in acidi grassi del grasso del latte delle vacche di razza Frisona italiana (FI), Bruna (BI), Reggiana (RG) e Modenese (MO). La ricerca è stata condotta su campioni di latte di massa di 40 allevamenti, 10 per ciascuna delle 4 razze allevate nella zona di produzione del Parmigiano-Reggiano. I prelievi sono stati effettuati durante il periodo autunnale, mediante due sopralluoghi presso ciascun allevamento; nel complesso, mediante gascromatografia capillare, sono stati analizzati 80 campioni di latte di massa. Le differenze tra le quattro razze sono risultate per lo più di moderata entità, con qualche eccezione. Il grasso del latte delle vacche di razza Frisona italiana è risultato quantitativamente più ricco in acido palmitico (32,25% FI; 31,26% RG; 30,61% MO; 29,78% BI) e meno provvisto in acido oleico (22,63% FI; 23,44% MO; 23,64% RG; 24,55% BI). Differenze statisticamente significative sono state osservate anche per gli acidi palmitoleico e linoleico.

**SUMMARY** - *Fatty acids composition of milk fat from four cattle breeds reared in the Parmigiano-Reggiano cheese production area.*

The fatty acids composition of milk fat from Italian Friesian (FI), Italian Brown (BI), Reggiana (RG) and Modenese (MO) cows was studied. The research was carried out on milk samples belonging to 40 dairy herds, 10 for each cattle breed reared in the Parmigiano-Reggiano cheese production area. The milk samples were collected during two surveys on each herd in the autumn season; by means of capillary gaschromatography, 80 herd milk samples were analysed. The differences among the four cattle breeds resulted of reasonable entity, with some exceptions. The milk fat from Italian Friesian resulted richer in palmitic acid (32,25% FI; 31,26% RG; 30,60% MO; 29,78% BI) and poorer in oleic acid (22,63% FI; 23,44% MO; 23,64% RG; 24,55% BI). Statistically significant differences for palmitoleic and linoleic acids were observed as well.

## Bibliografia

- 1) PIVA G., MASOERO F., PRANDINI A., FUSCONI G. (1989) – Fattori che influenzano la composizione del grasso del latte. *Sci. Tecn. Latt.-Cas.*, 40, 253-275.
- 2) PALMQUIST D.L., BEAULIEU A.D., BARBANO D.M. (1993) – Feed and animal factors influencing milk fat composition. *J. Dairy Sci.*, 76, 1753-1771.
- 3) LABARRE J.F. (1994) – Nutrition et variation du taux de matières grasses du lait de vache. *Rec. Méd. Vét.*, 170, 381-389.
- 4) PERDRIX M.F., SUTTER F., WENK C. (1996) – Facteurs de variation de la composition en acides gras de la matière grasse du lait de vache. *Revue Suisse d'Agriculture*, 28, 71-76.
- 5) BANKS W., CLAPPERTON J.L., STEELE W. (1983) – Dietary manipulation of the content and fatty acid composition of milk fat. *Proc. Nutr. Soc.*, 42, 399-406.
- 6) MARIANI P. (1984) – L'importanza del controllo dell'alimentazione nell'allevamento della vacca da latte. *Il Nuovo Progresso Veterinario*, 39, 747-755.
- 7) GRUMMER R.R. (1991) – Effect of feed on the composition of milk fat. *J. Dairy Sci.*, 74, 3244-3257.
- 8) COULON J.B., AGABRIEL C., BRUNSCWIG G., MULLER C., BONAITI B. (1994) – Effects of feeding practices on milk fat concentration for dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 77, 2614-2620.
- 9) BERTONI G. (1996) – Ambiente, alimentazione e qualità del latte. *Inf. Agr.*, 52(suppl. al n.21), 5-41.
- 10) FOGERTY A.C., JOHNSON A.R. (1980) – Influence of nutritional factors on the yield and content of milk fat: protected polyunsaturated fat in the diet. *FIL-IDF bull.*, 125, 96-104.
- 11) DOREAU M., CHILLIARD Y. (1992) – Influence d'une supplémentation de la ration en lipides sur la qualité du lait chez la vache. *INRA Prod. Anim.*, 5, 103-111.
- 12) CHILLIARD Y., DOREAU M., GAGLIOSTRO G., ELMEDDAH Y. (1993) – Addition de lipides protégés (encapsulés ou savons de calcium) à la ration de vaches laitières. Effets sur la performances et la composition du lait. *INRA Prod. Anim.*, 6, 139-150.
- 13) TEIXEIRA J.C., PINTO S.M., ABREU L.R., MUNIZ J.A. (1997) – Effect of dietary lipids sources on milk yield and composition from early lactation Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 80(suppl. 1), 164.
- 14) DECAEN C., ADDA J. (1970) – Évolution de la sécrétion des acides gras des matières grasses du lait au cours de la lactation de la vache. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.*, 10, 659-677.
- 15) PICCIOLI CAPPELLI F., MAIANTI M.G., BERTONI G., TREVISI E. (1990) – Sui fattori che modificano la composizione acidica e l'affioramento del grasso del latte: 1) La fase di lattazione. *Sci. Tecn. Latt.-Cas.*, 41, 365-386.
- 16) PIVA G., FUSCONI G., PRANDINI A., CAPRI E., PIETRI A. (1993) – Indagine su alcuni fattori che influenzano la composizione acidica del grasso del latte. *Atti Soc. Ital. Buiatria*, 25, 197-204.

- 17) COULON J.B. (1994) – Effets du stade physiologique et de la saison sur la composition chimique du lait de vache et ses caractéristiques technologiques. *Rec. Méd. Vét.*, 170, 367-374.
- 18) RENNER E., SENFT B. (1971) – Fatty acid composition of milk fat under the aspect of production. *Züchtungskunde*, 43(1), 26-37.
- 19) KRUKOVSKY V.N. (1961) – Vitamin A, carotenoid, iodine, and thiocyanogen values, and refractive index of milk fat as influenced by feed, and by individual and breed differences. *J. Agric. Food Chem.*, 9, 326-329.
- 20) STULL J.W., BROWN W.H. (1964) – Fatty acid composition of milk. II. Some differences in common dairy breeds. *J. Dairy Sci.*, 47, 1412.
- 21) HERMANSEN J.E., LUND P. (1990) – Fatty acid composition and milk quality related to feeding Ca-saponified palm acid oil to different breeds of dairy cows. *J. Dairy Res.*, 57, 23-31.
- 22) POLIDORI P., MAGGI G.L., MORETTI V.M., VALFRÉ F. (1993) – Caratteristiche dimensionali e composizionali dei globuli di grasso del latte di bovine di razza Frisone italiana e Bruna. *Atti Congresso Nazionale ASPA*, 10, 241-246.
- 23) BEAULIEU A.D., PALMQUIST D.L. (1995) – Differential effects of high fat diets on fatty acid composition in milk of Jersey and Holstein cows. *J. Dairy Sci.*, 78, 1336-1344.
- 24) BITMAN J., WOOD D.L., MILLER R.H., WILK J.C., MOORE E.D. (1995) – Comparison of lipid composition of milk from Half-Danish Jersey cows and United States Jersey cows. *J. Dairy Sci.*, 78, 655-658.
- 25) FAMULA T.R., MEDRANO J.F., DEPETERS E.J., BERRY S.L. (1995) – Estimation of heritability and genetic correlations among fatty acid components of milk in Holstein cows. *J. Dairy Sci.*, 78(suppl. 1), 194.
- 26) AOAC (1990). Fat in milk: Modified Mojonnier ether extraction method. In *Official methods of analysis*. (ed. by K. Helrich). Assoc. Off. Analytical Chemists, Inc. Arlington, Virginia, USA, 811-812.
- 27) KNAPP D.R. (1987) – *Handbook of analytical derivatization reactions*. John Wiley & Sons, New York, USA.
- 28) MORETTI V.M., MAGGI G.L., POLIDORI P., VALFRÉ F. (1993) – Isomeri di acidi grassi insaturi nel latte. *Atti Congresso Nazionale ASPA*, 10, 235-240.
- 29) COCCHI M., TURCHETTO E. (1999) – Acidi grassi polinsaturi e sviluppo perinatale. *Progr. Nutr.*, 1(1), 3-27.
- 30) MARIANI P., CATALANO A.L. (1974) – Osservazioni sulle caratteristiche del latte in rapporto all'alimentazione invernale e primaverile delle vacche nella zona del Grana Padano. *Riv. Zoot. Vet.*, 2, 409-421.
- 31) MARIANI P., CATALANO A.L. (1975) – Osservazioni sulle caratteristiche del latte di vacca in relazione all'impiego dell'urea nel mangime. *Riv. Zoot. Vet.*, 3, 253-271.
- 32) SARRA C., LADETTO G. (1988) – Lipidi del latte bovino: effetti dello stadio di lattazione e della stagione. *Obiettivi Doc. Vet.*, 9(11), 47-50.

- 33) PIVA G., FUSCONI G., PRANDINI A., CAPRI E. (1993) – Composizione acidica del grasso del latte: fattori di variabilità in aziende dell'area padana. *Sci. Tecn. Latt.-Cas.*, 44, 309-323.
- 34) DEPETERS E.J., MEDRANO J.F., REED B.A. (1995) – Fatty acid composition of milk fat from three breeds of dairy cattle. *Can. J. Anim. Sci.*, 75, 267-269.
- 35) DOS SANTOS E.C. (1971) – [Fatty acid composition in milk fat in Holstein Guernsey and Jersey's breeds]. *Arq. Esc. Vet.*, 23, 253-262.
- 36) EDWARDS R.A., KING J.W.B., YOUSEF I.M. (1973) – A note on the genetic variation in the fatty acid composition of cow milk. *Anim. Prod.*, 16, 307-310.
- 37) KOSMACK U. (1973) – [Genetic aspects of fatty acid composition of milk]. Thesis, Liebig University, Giessen, Germany, VIII +98 pp.
- 38) RENNER E., KOSMACK U. (1973) – [Genetic aspects of the fatty acid composition of milk fat]. *die Ernährungsindustrie*, 37-40.
- 39) DILS R.R. (1986) – Comparative aspects of milk fat synthesis. *J. Dairy Sci.*, 69, 904-910.

## MILK WITH ABNORMAL ACIDITY. VI. THE ROLE OF PHOSPHORUS CONTENT AND THE RENNET-COAGULATION PROPERTIES OF ITALIAN FRIESIAN HERD MILKS<sup>1</sup>

P. Formaggioni<sup>1</sup>, M. Malacarne<sup>2</sup>, A. Summer<sup>2</sup>, E. Fossa<sup>2</sup>, P. Mariani<sup>2</sup>

### *Introduction*

Titrate acidity plays a fundamental role in all phases of milk rennet-coagulation: reactivity between rennet and casein, aggregation rate of para-casein micelles and syneresis ability of the curd (1). It represents a very important parameter for the technical evaluation of the dairy-technological quality of milk. In the production of valuable cheeses (for example, the Parmigiano-Reggiano cheese), milk with abnormal acidity (especially hypoacid milk) is considered, more or less, unsuitable for cheesemaking, because of the remarkably negative consequences on the rheology of the acid-rennet curd and on the textural properties of the cheese paste (2). The pH, strictly correlated with the titrate acidity, markedly affects the rate of hydrolysis of the k-casein by the chymosin.

There are many substances which concur in determining the natural acidity of milk. Casein and soluble phosphorus represent more than 4/5 of the titrate acidity of the milk. In normal conditions, the contribution is almost of equal entity, while in abnormal milks, both hypoacid and hyperacid milk, such equilibrium is more or less profoundly altered because of one or both factors. One of the causes of variation in the acidity can be metabolic disorders (3, 4), which can play a very particular role, especially with reference to the acidimetric alterations arising from deficiencies and nutritional and alimentary imbalances (5, 6).

The aim of this work was to study, at the level of herd milk samples, the eventual relationship between the milk hypoacidity and the contents of casein and phosphorus, with reference also to the conditions of normal and medium-high acidity level, and evaluate their effects on milk rennet-coagulation.

### *Materials and methods*

The study was carried out on 51 herd milk samples, equally distributed between low, medium and medium-high acidity, characterised by a normal somatic cell con-

---

<sup>1</sup> This work was supported by the experimental programme of the Emilia-Romagna region, Centro Ricerche Produzioni Animali Spa, Corso Garibaldi 42, 42100 Reggio Emilia.

<sup>1</sup> Scienze Zootecniche e Qualità delle Produzioni Animali; Dipartimento di Produzioni Animali, Biotecnologie Veterinarie, Qualità e Sicurezza degli Alimenti; Università degli Studi di Parma; Via del Taglio 8, 43100 Parma.

<sup>2</sup> Centro Lattiero Caseario, via Torelli 17, 43100 Parma.

tent (Tab.1). The milk was collected in the province of Parma from small and medium size Italian Friesian dairy herds (*min.* 6 *max.* 60 lactating cows).

The screening of titratable acidity and somatic cell content, carried out to select three bulk milks with different acidity to be compared in parallel, was made monthly over the course of a year. Samplings were carried out in two cheese factories, one in the plain and one in the hill, both receiving milk from 18 dairy herds. From the first and the second cheese factory, respectively 9 and 8 homogeneous comparisons were obtained, distributed in three different seasonal periods of the year. The comparisons involved 7 different dairy herd producers of hypoacid milk in the first case, and 6 in the second one.

The following analyses were carried out on milk samples taken during morning milking from the production of the entire herd, to which 0.02% w/v sodium merthiolate was added:

- pH with potentiometer;
- Soxhlet-Henkel acidity with automatic Crison Compact D titrator;
- fat by means of mid-infrared lectures (7) with Milko-Scan 134A/B;
- total N (TN), noncasein N (NCN) and nonprotein N (NPN), respectively on milk, on pH 4.6 acid whey and on TCA 12% filtrate, by means of Kjeldahl, according to Aschaffenburg and Drewry (8); from which casein N (CN= TN – NCN), casein (CN x 6.38) and casein number (CN x 100 / TN);
- phosphorus by colorimetric method with ammonium molybdate in presence of 2.4 diaminophenol dihydrochloride according to Allen (9);
- chloride (Cl<sup>-</sup>) by volumetric method according to Charpentier-Volhard: clarification with zinc acetate and potassium ferrocyanide, acidification with nitric acid and re-titration of silver nitrate with 0.1 N ammonium thiocyanate (10);
- coagulation parameters (11), determined by means of Formagraph, at 35 °C on 10 ml of milk added with 0.2 ml of a rennet solution (1:19,000) diluted 1:100 with acetate buffer (pH 5.5); the technical time of analysis was 30 min (11, 12) and the following parameters were measured: r = clotting time; k<sub>20</sub> = curd firming time; a<sub>30</sub> = curd firmness measured 30 min after rennet addition;
- somatic cells (13) by Fossomatic 250 apparatus;

The statistical significance of the differences between the mean values was tested by ANOVA with SPSS program (14).

### *Results and discussion*

Milks characterised by low (L), medium (M) and medium-high (H) titratable acidity manifested a different chemical composition and were clearly distinguishable for their rennet-coagulation properties (Tab.1). Hypoacid milk contained less casein and less phosphorus in comparison with the milk characterised by normal titratable acidity. Milk with medium-high acidity resulted the richest in phosphorus.

Differences related to phosphorus content showed a high statistical significance (mg per 100 g: 85.0 L, 86.9 M, 90.8 H; P<0.0001), but they resulted relevant only in the comparison between low and medium-high acidity milks (difference of 5.8 mg of P) and between medium and medium-high acidity milks (difference of 3.9 mg of P).

The differences related to the casein content were moderate and statistically not significant (P>0.05). These results, also in a comparison between herd milks, confirm

the fundamental role of phosphorus in determining “moderate” levels of milk hypoacidity as already observed for individual milks (15, 16).

The phosphorus content outline for all samples (Tab.1) presented analogous differences (L, M, H) also within dairy herds subdivided between plain and hill (Tab.2).

Table 1 – Characteristics of herd milks (n=51) with a different acidity level. Mean±SD

Tabella 1 – Caratteristiche di latti di massa (n=51) a diverso grado di acidità. Media±DS

Titratable acidity levels <i>Livelli acidità titolabile</i> →		Low <i>Bassa</i> (L)	Medium <i>Media</i> (M)	Medium-High <i>Medio-Alta</i> (H)	P
Herd milks <i>Latti di massa</i>	no.	17	17	17	
Titratable acidity <i>Acidità titolabile</i>	°SH	5.80 ± 0.18 <sup>c</sup>	6.38 ± 0.12 <sup>b</sup>	6.96 ± 0.30 <sup>a</sup>	(1)
Somatic cells <i>Cellule somatiche</i>	10 <sup>3</sup> /ml	319 ± 239	285 ± 184	226 ± 114	NS
Fat <i>Grasso</i>	g/100g	3.62 ± 0.29	3.75 ± 0.21	3.80 ± 0.28	NS
Casein <i>Caseina</i>	g/100g	2.40 ± 0.14	2.44 ± 0.13	2.43 ± 0.13	NS
Nonprotein N, NPN <i>Azoto non proteico</i>	mg/100g	27.4 ± 5.0	30.9 ± 4.7	29.1 ± 3.2	NS
Casein N / Total N <i>Indice di caseina</i>	%	76.91 ± 1.30	76.52 ± 1.20	76.96 ± 0.94	NS
NPN / Total N <i>NPN/N totale</i>	%	5.59 ± 0.87	6.17 ± 0.79	5.89 ± 0.65	NS
Phosphorus <i>Fosforo</i>	mg/100g	85.0 ± 3.5 <sup>b</sup>	86.9 ± 3.3 <sup>b</sup>	90.8 ± 3.1 <sup>a</sup>	****
Chloride, Cl <sup>-</sup> <i>Cloruri, Cl</i>	mg/100g	118.7 ± 9.6 <sup>a</sup>	114.3 ± 10.3 <sup>ab</sup>	106.7 ± 11.8 <sup>b</sup>	**
pH	–	6.73 ± 0.03 <sup>a</sup>	6.69 ± 0.03 <sup>b</sup>	6.63 ± 0.04 <sup>c</sup>	****
r, clotting time <i>Tempo coagulazione</i>	min	22.1 ± 3.5 <sup>a</sup>	19.1 ± 1.6 <sup>b</sup>	16.3 ± 2.3 <sup>c</sup>	****
k <sub>20</sub> , curd firming time <i>Tempo rassodamento</i>	min	13.2 ± 4.9 <sup>a</sup>	10.8 ± 1.7 <sup>ab</sup>	9.1 ± 2.0 <sup>b</sup>	**
a <sub>30</sub> , curd firmness <i>Consistenza coagulo</i>	mm	14.5 ± 7.0 <sup>c</sup>	21.1 ± 3.6 <sup>b</sup>	27.1 ± 5.3 <sup>a</sup>	****

(1) Differ significantly for experimental condition;

(1) *Significativamente diversi per condizione sperimentale;*

a, b, c, differ for P<0.05

a, b, c, differiscono per P<0,05

NS, P>0.05; \*\*, P≤0.01; \*\*\*\*, P≤0.0001

Titrateable acidity was highly positively correlated ( $r = +0.71$ ;  $P < 0.0001$ ) with milk phosphorus content (Tab. 3), a result that is confirmed also by other studies (16, 17) conducted at the level of individual milks.

Chloride content manifested a diametrically opposite trend to that of phosphorus: its values were higher in hypoacid milk (mg per 100g: 118.7 L, 114.3 M, 106.7 H;  $P < 0.01$ ) (Tab.1). In fact, chloride content was negatively correlated both with acidity ( $r = -0.52$ ;  $P < 0.001$ ) and with phosphorus content ( $r = -0.57$ ;  $P < 0.0001$ ), as observed in a previous research (18) (Tab.3).

Results illustrated in figure 1, even if significant, do not show such an outline (19) to depict an evident direct relationship between abnormal acidimetric conditions in milk and substantial imbalances in the nutritional-metabolic *status* of the dairy cows.

In any case, the role of alimentary factors in determining milk acidity (1, 3, 20) appears very complex, such as to allow for the supposition of the involvement of general metabolic conditions, which, even if moderately abnormal, could induce, especially over a long period of time, alterations in the acid-base equilibria (6), which, in turn, could reverberate on milk salt equilibria and, consequently, also on its rennet-coagulation properties, as the present research can confirm.

Hypoacid milk, characterised by a higher pH, manifested considerably longer clotting times and curd firming times. The same milk, at 30 min after rennet addition, supplied a curd with very low firmness as compared to that of milk with normal titrateable acidity (Tab.1).

In fact, different clotting time ( $r$  in min: 22.1 L, 19.1 M, 16.3 H;  $P < 0.0001$ ) and curd firming time ( $k_{20}$  in min: 13.2 L, 10.8 M, 9.1 H;  $P < 0.01$ ) were registered. Curd firmness, also, resulted significantly different for the three levels of titrateable acidity ( $a_{30}$  in min: 14.5 L, 21.1 M, 27.1 H;  $P < 0.0001$ ), as well as observed for the clotting time.

In effect, both clotting time ( $-0.74$ ;  $P < 0.0001$ ), and curd firming time ( $-0.50$ ;  $P < 0.001$ ), and curd firmness measured 30 min after rennet addition ( $0.74$ ;  $P < 0.0001$ ) were strictly correlated to the milk acidity value.

### *Conclusions*

The acidity level of herd milk samples appears significantly affected by the phosphorus content; while there is no evidence of important variations regarding casein content. Low acidity milk contains less phosphorus, both in comparison to medium acidity milk and, especially, in comparison to medium-high acidity milk.

The same milks, however, even if with a similar and normal content of somatic cells, are characterised by a significantly different chloride content in relation to the three titrateable acidity levels. Low acidity milk has a higher chloride content, both in comparison to the medium acidity one, and, even more so, in comparison to the medium-high acidity one.

Correlations between titrateable acidity and phosphorus ( $r = 0.71$ ) and between phosphorus and chloride ( $r = -0.57$ ) are high and statistically significant ( $P < 0.0001$ ). The same correlations can be considered such as to posit an eventual relationship with alterations in the metabolic *status* of the cow, with particular reference to blood acid-base equilibrium.

Herd milk, characterised by a low titratable acidity, shows significantly higher pH values and coagulates in a significantly longer time, both in comparison to medium and to medium-high acidity milk.

**Keywords:** Italian Friesian cattle, herd milk, phosphorus, titratable acidity, rennet-coagulation

**Parole chiave:** Frisone italiana, latte di massa, fosforo, acidità, coagulazione pre-samica

Table 2 – Characteristics of herd milks, with a different acidity level, produced in plain and hill herds. Mean values.

*Tabella 2 – Caratteristiche di latti di massa, a diverso grado di acidità, prodotti negli allevamenti di pianura e di collina. Valori medi.*

Titratable acidity levels <i>Livelli acidità titolabile</i> →		Plain - <i>Pianura</i>			Hill - <i>Collina</i>		
		L	M	H	L	M	H
Herd milks <i>Latti di massa</i>	no.	9	9	9	8	8	8
Titratable acidity <i>Acidità titolabile</i>	°SH	5.90	6.42	6.98	5.68	6.36	6.94
Somatic cells <i>Cellule somatiche</i>	10 <sup>3</sup> /ml	446	375	239	177	184	211
Fat <i>Grasso</i>	g/100g	3.64	3.81	3.79	3.60	3.69	3.81
Casein <i>Caseina</i>	g/100g	2.40	2.44	2.44	2.41	2.43	2.41
Nonprotein N, NPN <i>Azoto non proteico</i>	mg/100g	30.2	32.4	30.7	24.3	29.1	27.3
Casein N / Total N <i>Indice di caseina</i>	%	76.26	76.22	76.64	77.65	76.86	77.33
NPN / Total N <i>NPN / N totale</i>	%	6.12	6.44	6.15	4.99	5.88	5.59
Phosphorus <i>Fosforo</i>	mg/100g	86.8	88.4	92.3	83.0	85.1	89.1
Chloride, Cl <i>Cloruri, Cl</i>	mg/100g	114.9	111.2	107.8	123.0	117.8	105.5
pH	–	6.72	6.68	6.63	6.74	6.69	6.65
r, clotting time <i>Tempo coagulazione</i>	min	21.2	18.8	16.6	23.0	19.4	16.0
k <sub>20</sub> , curd firming time <i>Tempo rassodamento</i>	min	12.6	10.6	9.0	13.9	11.0	9.1
a <sub>30</sub> , curd firmness <i>Consistenza coagulo</i>	mm	15.7	21.9	27.4	13.1	20.3	26.6

Table 3 – Significance of correlations between the characteristics of herd milks (n=51) with a different acidity level. Correlation coefficients.

Tabella 3 – Significatività delle correlazioni tra le caratteristiche di latti di massa (n=51) a diverso grado di acidità. Coefficienti di correlazione.

	Casein	Phosphorus	Chloride	pH	r	k <sub>20</sub>	a <sub>30</sub>
Acidity <i>Acidità</i>	0.07	0.71 ****	-0.52 ***	-0.85 ****	-0.74 ****	-0.50 ***	0.74 ****
Casein <i>Caseina</i>	1	0.23	0.32 *	0.14	0.10	-0.32 *	0.18
Phosphorus <i>Fosforo</i>		1	-0.57 ****	-0.62 ****	-0.56 ****	-0.49 ***	0.64 ****
Chloride <i>Cloruri</i>			1	0.46 ***	0.44 **	0.35 *	-0.41 **
pH				1	0.78 ****	0.45 ***	-0.73 ****
r					1	0.66 ****	-0.89 ****
k <sub>20</sub>						1	-0.81 ****
a <sub>30</sub>							1

\* P≤0.05; \*\* P≤0.01; \*\*\* P≤0.001; \*\*\*\* P≤0.0001

**SUMMARY** - The relationships between casein and phosphorus contents and titratable acidity were studied. The research was carried out on 51 herd milk samples characterised by low (L), medium (M) and medium-high (H) titratable acidity. Low acidity milk presented lowest casein and phosphorus contents. Differences in phosphorus content were statistically significant (mg per 100 g of milk: 85.0±3.5 L; 86.9±3.3 M; 90.8±3.1 H; P<0.0001). Chloride content, instead, was highest in the low acidity milk (mg of Cl<sup>-</sup>: 118.7±9.6 L; 114.3±10.3 M; 106.7±11.8 H; P<0.01). Titratable acidity resulted positively correlated with phosphorus content (r = 0.71; P<0.0001) and negatively with chloride content (r = -0.52; P<0.001). Milk characterised by a low acidity had a markedly longer clotting time (min: 22.1 L, 19.1 M, 16.3 H; P<0.0001). In effect, the negative correlation between clotting time and milk acidity resulted very high (r = -0.74; P<0.0001).

**RIASSUNTO** - *Il latte ad acidità anomala. VI. Il ruolo del fosforo e le proprietà di coagulazione presamica di campioni di latte di massa di vacche di razza Frisone italiana.*

Sono stati studiati i rapporti tra i contenuti di caseina e di fosforo e l'acidità titolabile del latte. L'indagine è stata condotta su 51 campioni di latte di massa di singoli allevamenti caratterizzati da bassa (L), media (M) e medio-alta (H) acidità titolabile. Il latte a bassa acidità è risultato più povero di caseina e di fosforo. Le differenze riguardanti il fosforo sono risultate statisticamente significative (mg P per 100 g latte: 85,0 L; 86,9 M; 90,8 H; P<0,0001). Per contro, il latte a bassa acidità è risultato più ricco di cloruri (mg Cl<sup>-</sup> per 100 g latte: 118,7 L; 114,3 M; 106,7 H; P<0,01). L'acidità titolabile è risultata correlata positivamente con il contenuto di fosforo (r = 0,71; P<0,0001) e negativamente con il contenuto di cloruri (r = -0,52; P<0,001). Il

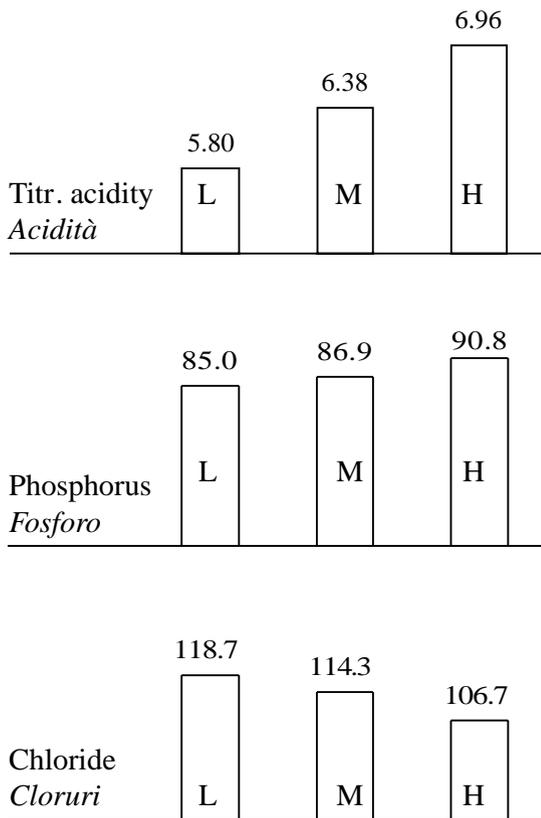


Figure 1 - Titratable acidity ( $^{\circ}\text{SH}$ ) and phosphorus (mg /100 g) and chloride contents (mg of  $\text{Cl}^-$  / 100 g) of herd milks (n=51) with a different acidity level: L = low; M = medium; H = medium- high.

*Figura 1 - Acidità titolabile ( $^{\circ}\text{SH}$ ) e contenuti di fosforo (mg/100g) e di cloruri (mg di  $\text{Cl}^-$  / 100 g) di latte di massa (n= 51) a diverso grado di acidità titolabile: L = bassa; M = media; H = medio- alta.*

latte caratterizzato da bassa acidità titolabile ha manifestato tempi di coagulazione nettamente più lunghi (min: 22,1 L; 19,1 M; 16,3 H;  $P < 0,0001$ ). In effetti, la correlazione negativa tra tempo di coagulazione e acidità del latte è risultata molto elevata ( $r = -0,74$ ;  $P < 0,0001$ ).

#### References

- 1) MARIANI P. (1989) - Attitudine del latte alla coagulazione presamica: ruolo dell'acidità nella produzione di formaggi a lunga maturazione. *Obiettivi e Documenti Veterinari*, 10(2), 13-22.
- 2) ANNIBALDI S., FERRI G. (1978) - La valutazione tecnico-economica del latte desti-

nato alla produzione del formaggio Parmigiano-Reggiano. Atti Convegno Fondazione Iniziative Zooprofilattiche e Zootecniche su "Valutazione Qualitativa del Latte", Brescia, pp. 118-134.

3) FAMIGLI BERGAMINI P. (1987) - Rapporti tra patologia (non mammaria) ed aspetti quali-quantitativi del latte nella bovina. Atti Soc. Ital. Buiatria, 19, 89-99.

4) GENTILE G., CINOTTI S., FERRI G., FAMIGLI BERGAMINI P. (1986) - Nutritional acidosis and technological characteristics of milk in high producing dairy cows. Proc. 14<sup>th</sup> World Congress on Diseases of Cattle, 2, 823-828. P.J. Hartigan & M.L. Monaghan ed., Dublin, Ireland.

5) MARTELLI P., MARIANI P., ZANNETTI G. (1987) - Aspetti clinici delle sindromi da alterata acidità del latte destinato alla produzione dei formaggi a lunga stagionatura. Ann. Fac. Med. Vet., Univ. Parma, 7, 59-75.

6) GAJDUSEK S. (1990) - [Dynamics of changes of milk properties in cow with acute acidosis]. Zivocisna V?roba., 35, 955-962.

7) BIGGS D.A. (1978) - Instrumental infrared estimation of fat, protein and lactose in milk: collaborative study. J. Assoc. Off. Anal. Chem., 61, 1015-1034.

8) ASCHAFFENBURG R., DREWRY J. (1959) - New procedure for the routine determination of the various non-casein proteins of milk. XV<sup>th</sup> Int. Dairy Congr., 3, 1631-1637.

9) ALLEN R.J.L. (1940) - The estimation of phosphorus. Biochem. J., 34, 858-865.

10) SAVINI (1946) - Analisi del latte e dei latticini. Ed. Hoepli, Milano.

11) ANNIBALDI S., FERRI G., MORA R. (1977) - Nuovi orientamenti nella valutazione tecnica del latte: tipizzazione lattodinamografica. Sci. Tecn. Latt.-cas., 28, 115-126.

12) ZANNONI M., ANNIBALDI S. (1981) - Standardization of the renneting ability of milk by Formagraph. I. Sci. Tecn. Latt.-cas., 32, 79-94.

13) SCHMIDT-MADSEN P. (1975) - Fluoro-opto-electronic cell-counting on milk. J. Dairy Res., 42, 227-239.

14) SPSS INC. (1997) - Versione 7.5.21.

15) CALAMARI L., PALLAVICINI G., FOGLIA E., BERTONI G. (1983) - Ricerche su talune cause di variazione dell'acidità del latte bovino. Atti Congr. Naz. Ass. Sci. Prod. Anim., 5, 179-185.

16) MARIANI P., ARTONI A. (1983) - Il latte ad acidità anomala. II. Composizione in caseina, fosforo e acido citrico. Sci. Tecn. Latt.-cas., 34, 33-49.

17) CAPPA V., CALAMARI L., BANI P. (1984) - Somministrazione a bovine di integratori minerali a diverso rapporto calcio / fosforo ed effetti sul profilo metabolico e su talune caratteristiche del latte. Zoot. Nutr. Anim., 10, 163-176.

18) MARIANI P., BONATTI P., PECORARI M. (1989) - Il latte ad acidità anomala. IV. Fosforo solubile, cloruri e tipi di latte ipoacido. Sci. Tecn. Latt.-cas., 40, 215-225.

19) DIRKSEN G. (1992) - Control of production disease in dairy cows in a changing agricultural environment. Proc. 8<sup>th</sup> Int. Conf. "Production diseases in farm animals", Berna, pp. 271-282.

20) BERTONI G. (1996) - Ambiente, alimentazione e qualità del latte. L'Informatore Agrario, 52(21)(suppl.), 5-41.

## **RAPPORTI TRA CARATTERI MORFOLOGICI ED INSORGENZA DELLE MASTITI IN BOVINE DI RAZZA FRISONA ITALIANA <sup>(1)</sup>**

Alberto Sabbioni <sup>(2)</sup> <sup>(3)</sup>, Paola Superchi <sup>(2)</sup>, Claudia Sussi <sup>(2)</sup>,  
Massimo Crema <sup>(2)</sup>, Alberto Bonomi <sup>(2)</sup>

### *Introduzione*

È noto che nelle aree, nelle quali l'allevamento bovino da latte ha trovato la sua più larga diffusione, approssimativamente una bovina su due denuncia problemi mammari, mentre la percentuale di animali che vengono eliminati per gravi problemi di questo tipo è dell'ordine del 5-6% (BALLARINI, 1994). È inoltre stato calcolato che le mastiti rappresentano la più importante voce della spesa sanitaria negli allevamenti bovini da latte e che la sola presenza di mastiti subcliniche determina una perdita di circa 155 €/capo/lattazione (ZECCONI, 1996).

La mastite è una patologia infettiva fortemente condizionata da fattori esterni, legati in parte all'animale (razza, ordine di parto, stadio di lattazione, livello produttivo, caratteristiche morfologiche) ed in parte alle condizioni di allevamento (livello di managerialità, igiene dell'allevamento, presenza di lettiera, condizioni e manutenzione della mungitrice, corretta esecuzione della mungitura, trattamenti endomammari non asettici) (BALLARINI, 1994).

Limitando volutamente l'attenzione ai rapporti fra la morfologia dell'animale e l'insorgenza della mastite, mentre la bibliografia è ricca di lavori che prendono in considerazione le caratteristiche intrinseche della mammella, scarsa attenzione è stata finora tributata allo studio della morfologia dell'animale, espressa come punteggio morfologico.

Con riferimento alle caratteristiche della mammella, YOUNG et al. (1960) hanno dimostrato che le bovine che presentano mammelle più profonde hanno una più elevata incidenza di mastiti; dalle analisi di laboratorio, è emerso anche un più elevato numero di cellule somatiche nel latte. Un risultato simile lo ha ottenuto anche GARJKAVYI (1969), rilevando che le bovine con minore incidenza di mastite hanno una mammella poco profonda e poco pendula. La spiegazione di ciò può essere ricercata in più concause: le mammelle così conformate meno facilmente vengono a contatto con gli agenti mastitogeni contenuti nel terreno e nelle pavimentazioni, nella fase di decubito si insudiciano meno e sono più difficilmente soggette a traumatismi da calpestamento, sono meno produttive (caratteristica questa che si correla a una

---

<sup>1</sup> Ricerche condotte con finanziamento del MURST (fondi locali per la ricerca). Il lavoro spetta in parti uguali agli Autori.

<sup>2</sup> Dipartimento di Produzioni Animali, Biotecnologie Veterinarie, Qualità e Sicurezza degli Alimenti - Università degli Studi - 43100 Parma.

<sup>3</sup> Indirizzo per corrispondenza - *Corresponding Author*: alberto.sabbioni@unipr.it

maggior stabilità dell'equilibrio metabolico della bovina), si svuotano meglio (riduzione del latte residuo, che costituisce un ottimo terreno di coltura per i batteri dopo la mungitura).

Sempre analizzando la struttura volumetrica della mammella, in correlazione a quella delle inserzioni (c.d. attacchi), è stato visto che le mastiti insorgono con una certa frequenza dove si associano mammelle profonde e attacchi deboli (specialmente quello anteriore). A conferma di ciò, stime di correlazioni genetiche hanno mostrato che le mammelle più alte con un più forte e aderente attacco anteriore sono correlate ad una bassa incidenza di mastiti cliniche e bassi valori di SCS (Somatic Cell Score). Simili correlazioni tra SCS e profondità della mammella sono state trovate anche da altri Autori (BOETTCHER et al., 1998; LUND e JENSEN, 1996; ROGERS et al., 1991; SEYKORA e McDANIEL, 1986). A conferma di questi risultati LAWSTUEN et al. (1988), riportano favorevoli correlazioni tra mastiti cliniche e profondità della mammella (-0,69) e legamento anteriore (-0,57). In contrasto con quanto finora detto LUND et al. (1994) e GROEN et al. (1994) hanno calcolato che le correlazioni sono sfavorevoli ma scarsamente significative (rispettivamente 0,11 e 0,18 per la prima e 0,18 e 0,09 per la seconda).

Risultati non concordi fra loro sono stati registrati per le relazioni fra la distanza tra i capezzoli (visti di fronte e di lato) e la salute della mammella; infatti, mentre ROGERS et al. (1991) e SEYKORA e McDANIEL (1986) hanno calcolato correlazioni lievemente favorevoli (soprattutto in termini di SCS), BOETTCHER et al. (1998) non hanno riscontrato nessuna correlazione genetica tra i due parametri. Al contrario, LUND et al. (1994) hanno rilevato che ad un più elevato valore di SCS corrispondono capezzoli più vicini tra di loro.

Anche la forma del capezzolo sembra giocare un ruolo di primaria importanza sia nei riguardi della funzionalità della mammella sia nell'insorgenza delle mastiti. Per analizzare in modo sistematico le caratteristiche morfo-funzionali del capezzolo e le loro eventuali correlazioni con le mastiti cliniche, possono essere presi in considerazione i seguenti parametri.

a) - Lunghezza e diametro: dalla combinazione di queste misure si ottiene la cosiddetta "taglia" del capezzolo. L'ereditabilità di quest'ultima oscilla tra 0,26 e 0,63 (SEYKORA 1983), valori che possono essere considerati medio-alti. Questa caratteristica è stata sfruttata nella selezione della razza Frisona italiana, in cui i capezzoli sono stati selezionati con misure orientative di 6-7 cm di lunghezza per 3-3,5 cm di larghezza; in tal modo si riesce ad aver una buona mungibilità della mammella, per la buona congruenza con il portacapezzolo della mungitrice. Inoltre, un capezzolo tendenzialmente corto fa diminuire le probabilità di ferite e traumi; in particolare GROMMERS et al. (1971) hanno notato che una lunghezza del capezzolo inferiore a 6,5 cm riduce i rischi di calpestateamento nelle bovine in piena attività produttiva, il che potrebbe successivamente evitare l'insorgenza della mastite. Alcuni Autori ritengono che a favorire l'infezione non sia tanto la taglia del capezzolo, quanto lo stato di tonicità e l'integrità anatomica dello sfintere, perché è da questi che dipende il flusso del latte (quindi lo svuotamento della mammella) e l'entrata di patogeni (JOHANSSON e MALVEN, 1960). RATHORE e SHELDRAKE (1977) hanno trovato una relazione tra diametro del capezzolo e diametro dell'orifizio; infatti a un più largo diametro del capezzolo corrisponde un più largo diametro dell'orifizio, che

può provocare, nelle bovine anziane una maggior predisposizione alle mastiti. A conferma di ciò, APPLEMAN (1970) riporta che la maggior parte delle mastiti sono presenti in bovine che hanno un capezzolo largo e uno sfintere muscolare poco tonico; da tutto questo si può dedurre l'esistenza di una relazione direttamente proporzionale tra diametro del capezzolo e diametro dello sfintere, e inversamente proporzionale tra diametro del capezzolo e stato di tonicità dello sfintere; la resistenza alle mastiti è superiore, quindi, in presenza di capezzoli corti e non troppo larghi. Anche recenti ricerche hanno confermato quanto detto in precedenza: DE JONG e LANSBERGEN (1996) riportano un'alta correlazione tra mastiti cliniche e lunghezza del capezzolo, ROGERS et al. (1991) e SEYKORA e McDANIEL (1986) che la stessa correlazione esiste tra lunghezza del capezzolo e SCS.

b) - Forma: i capezzoli possono essere classificati in tre tipologie differenti: a imbuto, cilindrico, a bottiglia. Sebbene la forma più frequente sia quella cilindrica, è quella ad imbuto ad essere correlata con una minor frequenza di mastiti (HICKMAN 1964); in accordo con lui e a seguito di un'indagine più approfondita, RATHORE (1976) ha riscontrato che le bovine di razza Frisona del nuovo Galles con capezzoli ad imbuto hanno un più basso livello di cellule somatiche e una produzione di latte maggiore del 10,9%. Stessi risultati sono stati ottenuti anche in bovine di razza Guernsey australiane (RATHORE, 1977b). Da queste osservazioni si deduce che la forma ad imbuto offre una maggiore resistenza ad essere risucchiata nel portacapezzolo (di conseguenza l'interruzione del flusso del latte tra cisterna del latte e cisterna del capezzolo avviene con più difficoltà); durante le fluttuazioni del vuoto della mungitrice, il latte, poi, passa più facilmente, rendendo più efficiente lo svuotamento della mammella e riducendo gli insulti al capezzolo. Le altre due tipologie sono più soggette a problemi durante la mungitura e all'insorgenza di mastiti. Una spiegazione risiede nella maggior facilità di interruzione del flusso e dell'instaurarsi del c.d. "arrampicamento" del portacapezzolo durante la fase finale della mungitura. Per quanto riguarda la predisposizione alle mastiti, il capezzolo a bottiglia e quello cilindrico, soprattutto se presenti in mammelle molto produttive (oltre 20 kg di latte al giorno), non permettono il completo svuotamento della mammella, inducendo in tal modo un aumento del latte di sgocciolatura, che diviene un ottimo terreno di coltura per eventuali batteri patogeni che possono dare origine a fenomeni mastitici. È anche stato visto che questi capezzoli presentano con maggior frequenza traumatismi a livello dell'orifizio del capezzolo, rispetto a quelli ad imbuto (RATHORE, 1977a). Gli unici risultati che depongono in modo sfavorevole verso i capezzoli a imbuto sono quelli esposti da BAKKEN (1981), in cui a questa tipologia era correlato un lieve aumento di frequenza di mastiti da *Staphylococcus aureus*.

c) - Forma della punta del capezzolo: per descrivere le variazioni della forma della punta del capezzolo è stata proposta da APPLEMAN (1973) una classificazione che suddivide gli stessi in 5 classi: a punta (pointed), rotondo (round), piatto (flat), a disco (disk, plate shape), a cono (cone, inverted funnel, concave, pocketed). L'assegnazione di un capezzolo alla relativa classe non risulta sempre agevole, perché il sistema è soggettivo; inoltre, durante la vita produttiva della bovina si assiste a modificazioni a livello di apice del capezzolo, dovute in gran parte all'alternarsi dei periodi di lattazione e asciutta e ai sistemi meccanici di mungitura, che ne fanno cambiare la classe di appartenenza; un ultimo motivo risiede nelle eventuali lesioni

che a livello di apice possono trasformarne la morfologia e di conseguenza cambiarne la classe. Nonostante tutto APPLEMAN (1973) riuscì a trovare una ripetibilità della forma della punta del capezzolo, in bovine valutate in tempi diversi della loro vita, di 0,60. Per quanto riguarda la predisposizione alle mastiti, sembra che la classe a cono sia quella maggiormente coinvolta. Il motivo risiederebbe nel fatto che il latte è soggetto a ristagnare all'estremità del cono, e ciò facilita la moltiplicazione batterica e la loro penetrazione all'interno della cisterna del capezzolo; di più, il largo diametro del canale papillare, associato con tale classe, permetterebbe un più facile accesso degli stessi batteri alla cisterna del capezzolo. FIEDLER et al. (1982), LOJDA et al. (1976) e MACHA et al. (1981) hanno notato che la maggioranza delle mastiti erano presenti in capezzoli con apice a cono o a disco rispetto a quelli con apice rotondo. Inoltre LOJDA et al. (1976) hanno riscontrato un maggiore numero di lesioni da irritazione nei capezzoli con apice a punta, attribuendo il fatto al maggiore tempo di mungitura che questo tipo di capezzoli richiede, in accordo con quanto trovato da JOHANSSON (1957). Le lesioni che si riscontrano normalmente sulla punta del capezzolo sono costituite da erosioni, eversioni e prolapsi a livello di orifizio; la patogenesi, il più delle volte, è la seguente: un irregolare funzionamento della mungitrice, con elevate fluttuazioni del vuoto e/o una mungitura oltre il normale (condizione quest'ultima indicata con il termine di "summungitura") determinano uno stiramento e una estroflessione, all'esterno dell'orifizio, del tessuto epiteliale che tappezza internamente il canale papillare, una ipercheratinizzazione del tessuto circostante all'orifizio e una iperplasia epiteliale della punta del capezzolo (queste lesioni sono anche aggravate dal diretto contatto, che l'epitelio del canale papillare viene ad avere con i disinfettanti utilizzati per la pulizia della mammella) (FARNSWORTH et al., 1978). Nella ricerca delle possibili relazioni che queste lesioni hanno con le mastiti, sia cliniche sia subcliniche, i risultati sembrano dimostrare che l'aumento di lesioni all'apice del capezzolo e l'aumento dell'incidenza delle mastiti vadano di pari passo; SIEBER e FARNSWORTH (1981) riferiscono di non significative e complete relazioni tra mastiti e lesioni all'apice; essi riportano, da un'analisi di 3.982 bovine, che solo il 4% dei capezzoli con lesioni acute e il 2% dei capezzoli traumatizzati determinano un aumento dell'incidenza di mastite. JACKSON (1970) ha notato un aumento della frequenza di mastite 10 volte maggiore nei quarti con lesioni all'apice del capezzolo rispetto a quelli con apice perfettamente liscio e sano. SIEBER e FARNSWORTH (1981) hanno anche trovato correlazioni positive tra aumento delle lesioni e produzione di latte. Da uno studio effettuato per correlare la tipologia dell'apice del capezzolo con il contenuto di cellule somatiche nel latte di bovine in prima lattazione, HODGSON e MURDOCK (1980) hanno raccolto i seguenti risultati, che esprimono il numero di cellule somatiche per classe morfologica: apice a punta 88.000, apice rotondo 118.000, apice piatto 420.000, apice a disco 377.000, apice a cono 1.222.000. Non tutti gli Autori concordano con questi risultati; APPLEMAN (1973), analizzando bovine nei primi 5 mesi della prima lattazione, non ha trovato differenze significative fra le classi; CHRYSSTAL et al. (1999), analizzando 2261 lattazioni di 1740 bovine Holstein appartenenti a 9 mandrie diverse, hanno notato che la forma dell'orifizio del capezzolo e le lesioni ad esso associate non interessano significativamente il SCS.

d) - Orifizio e dotto papillare: l'orifizio e il dotto papillare costituiscono una bar-

riera funzionale nei confronti della penetrazione batterica. La taglia del dotto papillare e la forza di contrazione dello sfintere muscolare sono caratteristiche importanti nella prevenzione dell'invasione batterica della cisterna del capezzolo. RATHORE e SHELDRAKE (1977) hanno sviluppato uno strumento che misurava l'estensibilità dello sfintere attraverso la sua collocazione nel canale papillare. Essi hanno riscontrato che una elevata estensibilità era associata a capezzoli a forma ad imbuto, largo diametro del capezzolo, veloce flusso di latte e alta produttività. Sembra che anche la senilità e la durata della carriera produttiva influenzi l'estensibilità dell'orifizio, perché una maggiore estensibilità è stata trovata nelle bovine più anziane. Relativamente alla taglia del dotto papillare, McDONALD (1975), utilizzando una tecnica radiologica, ha notato che a un più lungo canale papillare corrisponde una più bassa suscettibilità a contrarre infezioni intramammarie; inoltre i quarti mammari infetti, avevano un diametro medio del canale papillare più largo rispetto ai quarti non infetti. Un riscontro parallelo è stato trovato per le cellule somatiche, che sono risultate essere più elevate nei quarti con canale papillare corto e largo (GREGA e SZAREK, 1982). Un particolare studio è stato condotto al fine di verificare se la localizzazione dell'orifizio del capezzolo influenzi l'incidenza delle mastiti. I capezzoli sono stati suddivisi in due classi: con orifizio centrale (87% di quelli presi in esame) e con orifizio eccentrico (13%). Dai risultati è emerso che, l'appartenenza all'una o all'altra categoria non influenza l'incidenza di mastiti subcliniche (LOJDA et al., 1976).

Obiettivo del presente lavoro è quello di verificare l'esistenza di relazioni fra i punteggi morfologici espressi per le diverse regioni del corpo della bovina (ed i relativi indici genetici) e la probabilità di insorgenza della mastite, valutata all'interno di una popolazione coinvolta in un progetto di monitoraggio della mastite da parte della relativa Associazione di Razza, al fine del miglioramento genetico nei confronti dell'insorgenza di tale patologia.

### *Materiali e metodi*

Per la ricerca sono stati presi in considerazione i dati relativi a 6061 bovine di razza Frisona Italiana, allevate in provincia di Mantova, che avevano partorito fra aprile 1996 e dicembre 1998, sottoposte, da parte dei tecnici dell'Associazione Provinciale Allevatori, a prelievi sterili di latte, da sottoporre ad analisi batteriologica. L'83,1 % dei soggetti era rappresentato da bovine in prima lattazione, il 13,1 % in seconda ed il rimanente 3,8 % in terza o successive. Fra settembre 1996 e gennaio 1998 le bovine sono state sottoposte a valutazione morfologica secondo le norme ANAFI (1998). Sono stati inoltre calcolati gli indici genetici morfologici e registrate le produzioni di latte ed i relativi contenuti di grasso e proteine, nonché il numero di cellule somatiche, in corrispondenza del controllo funzionale più prossimo al momento del prelievo di latte.

Sui dati grezzi morfologici e genetici si è proceduto ad una analisi statistica descrittiva nonché all'analisi della varianza secondo un modello fattoriale, che prevedeva come fattori fissi: a) lo stato sanitario della mammella (3 classi: animali sani; animali con mastite da: *S.aureus*; *Str.agalactiae*), b) l'ordine di lattazione (3 classi), c) la loro interazione, e, come covariate, a) la produzione di latte, b) la distanza fra il

parto e la valutazione morfologica e c) la distanza fra il parto e la diagnosi di mastite. Per tale elaborazione sono stati eliminati i soggetti risultati positivi alla presenza di *Str.uberis*, *Str.dysgalactiae*, *Str.faecalis*, *S.epidermidis*, *E.coli*, *Corynebacterium* spp., micoplasmi, miceti e da polimicrobismo, a causa della scarsità della consistenza delle relative classi. L'analisi della varianza è stata quindi condotta su 5136 osservazioni.

Attraverso l'analisi della regressione sono stati poi messi in relazione i punteggi morfologici e gli indici genetici morfologici di tutte le bovine, indipendentemente dall'agente eziologico, con una variabile dipendente di tipo dicotomico, che intende rappresentare lo stato di salute della mammella (+1=mammella sana; -1=mastite), al fine di calcolare equazioni di previsione dello stesso.

### *Risultati e discussione*

Le caratteristiche generali del campione delle bovine oggetto dell'indagine sono raccolte nelle tabelle nn. 1, 2, 3.

Dall'esame della tabella n.1 si evince che i soggetti che hanno presentato infezione mammaria sono stati pari, nel complesso, al 30,75 % del campione; la loro produzione latte, in corrispondenza del controllo immediatamente precedente alla diagnosi, è risultata superiore mediamente ( $P<0,05$ ) a quella degli animali risultati sani (33,7 kg/d vs 33,1). È infatti noto da tempo che uno dei fattori che possono indurre l'insorgenza di mastite è rappresentato dalla elevata produzione di latte, in grado di determinare un eccessivo sfruttamento della ghiandola mammaria e condizioni di carenza alimentare, anche latenti.

Il contenuto in grasso e proteine del latte è risultato non diverso ( $P>0,05$ ) fra i gruppi, mentre il contenuto di cellule somatiche ha fatto registrare valori più elevati ( $P<0,01$ ) nei soggetti con successiva mastite conclamata. La leucocitosi è infatti

Tabella n.1 - Produzione giornaliera, contenuto di proteine, grasso e cellule somatiche del latte prodotto in prossimità del controllo della presenza di mastite negli animali risultati sani o affetti da mastite da *S.aureus*, *Str. agalactiae* o da altri agenti.

		Sani	Con mastite da			DSR
			<i>S.aureus</i>	<i>Str.agalactiae</i>	Altri agenti	
Soggetti	n.	4197	539	400	925	-
Latte	kg	33,1 a	33,9 b	33,4 ab	33,7 b	8,0
Proteine	%	3,08	3,10	3,11	3,07	0,3
Grasso	%	3,75	3,75	3,67	3,72	0,8
Cellule	n. x 1000	278 A	433 B	510 B	387B	757
Ordine di lattazione	n.	1,7	1,8	1,8	1,8	1,3
Stadio di lattazione	d	155 A	180 B	195 C	159 A	113

a,b:  $P<0,05$ ; A, B, C:  $P<0,01$

spesso un sintomo premonitore nei confronti della mastite, pur non accompagnandosi alla riduzione della produzione.

Le tabelle nn. 2 e 3 espongono le principali statistiche descrittive (media  $\pm$  d.s., minimo, massimo, asimmetria, curtosi) per i punteggi e gli indici genetici morfologici. La distribuzione dei punteggi morfologici ha manifestato nel complesso una

Tabella n.2 - Statistiche descrittive dei punteggi morfologici del campione globale.

Parametro	Codice	Media	$\pm$ DS	Minimo	Massimo	Asimmetria	Curtosi
Punteggio finale	PUNT	79,99	1,99	70	87	-0,278	0,836
Statura	STAT	27,05	5,96	4	46	-0,284	0,191
Forza-vigore	FORZ	27,02	5,18	4	42	-0,468	0,455
Profondità	PROF	28,02	5,11	6	45	-0,443	0,526
Angolosità	ANGO	26,04	5,43	5	45	-0,263	-0,133
Angolo groppa	ANGR	25,32	6,88	5	48	-0,455	-0,637
Larghezza groppa	LARG	25,15	6,34	3	46	-0,170	-0,108
Arti	ARTI	26,63	6,47	5	46	-0,325	-0,519
Arti visti da dietro	ARTID	24,17	7,52	10	45	-0,357	-0,703
Piedi	PIED	25,50	6,58	2	45	-0,138	-0,444
Funzionalità arti e piedi	ARPI	24,19	6,67	8	39	-0,234	-0,685
Mammella:							
attacco anteriore	MANT	25,68	6,61	2	45	-0,383	-0,306
altezza posteriore	ALTP	23,18	5,95	2	45	-0,167	-0,385
larghezza posteriore	LARP	27,41	6,60	2	46	-0,614	-0,424
legamento	LEGA	28,23	5,81	2	46	-0,687	-0,745
profondità	PROM	29,50	6,89	7	49	-0,506	-0,222
simmetria	SIMM	24,64	6,36	1	50	0,501	4,121
Capezzoli:							
posizione	CAPP	25,26	5,94	3	42	0,039	0,079
dimensione	CAPD	23,89	6,22	2	50	-0,069	0,467

Tabella n.3 - Statistiche descrittive degli indici genetici (IGV) morfologici del campione globale.

Parametro	Codice	Media	$\pm$ DS	Minimo	Massimo	Asimmetria	Curtosi
IGV Punteggio finale	VPUN	-5,97	58,66	-99	192	0,705	-0,108
IGV Statura	SST	-19,25	102,95	-395	364	0,104	0,143
IGV Forza-vigore	SFV	-6,79	99,10	-357	372	-0,071	0,157
IGV Profondità	SPR	-11,99	102,19	-417	339	-0,007	0,254
IGV Angolosità	SAN	-33,01	112,12	-468	345	-0,112	-0,048
IGV Angolo groppa	GAN	-8,72	112,85	-403	411	-0,149	-0,080
IGV Larghezza groppa	GLA	-15,60	113,91	-429	372	-0,042	0,101
IGV Arti visti di lato	AVL	-9,86	111,91	-443	374	-0,036	0,023
IGV Angolo Piedi	PAN	8,18	109,69	-503	340	-0,186	0,172
IGV Forza attacco ant.	MFA	-27,31	110,11	-436	427	-0,008	0,162
IGV Altezza attacco post.	MAL	-33,09	107,67	-423	327	0,011	-0,214
IGV Larghezza att. post.	MLA	-36,59	114,07	-604	304	-0,328	0,194
IGV Legamento centrale	MLE	-29,85	103,97	-411	296	-0,110	-0,142
IGV Profondità mamm.	MPR	-4,16	106,95	-458	322	-0,270	0,256
IGV posizione capezzoli	CVD	-29,02	108,37	-466	373	-0,009	0,202
IGV dimensione cap.	CDI	1,72	102,19	-356	368	0,141	0,177
Indice compless. mamm.	ICM	-23,69	75,14	-353	225	-0,109	0,201

moderata asimmetria negativa, mentre con riferimento alla curtosi spicca il valore particolarmente alto del parametro “simmetria”, che indica una distribuzione con un eccesso di valori nelle code. Anche gli indici genetici morfologici manifestano spesso asimmetria negativa mentre i valori di curtosi sono nel complesso intorno al valore zero.

L’analisi della varianza ha messo in luce (dati non tabulati), in generale, un effetto significativo sui punteggi e sugli indici morfologici delle variabili fisse inserite nel modello e, fra le covariate, della produzione di latte. Osservando, in particolare, l’effetto dello stato sanitario della mammella (tabelle nn. 4 e 5), è possibile osservare che i soggetti con punteggi finali più bassi e con valori inferiori nella valutazione morfologica nei confronti di statura, forza-vigore, profondità, larghezza della groppa, arti e piedi ( $P<0,01$ ), nonché negli indici genetici morfologici relativi a punteggio finale ( $P<0,05$ ), angolosità, arti visti di lato ( $P<0,01$ ), larghezza groppa, angolo piedi ( $P<0,05$ ), forza attacco anteriore, altezza attacco posteriore, legamento centrale, posizione capezzoli e indice complessivo mammella ( $P<0,01$ ) appartengono al gruppo di bovine che nel corso della lattazione relativa alla valutazione morfologica manifesteranno mastite da *Str.agalactiae*. Ciò potrebbe essere messo in relazione con la parti-

Tabella n.4 - Valutazioni morfologiche in soggetti sani o che svilupperanno mastite da *S.aureus* e *Str.agalactiae* (n. = 5136)

Codice parametro (*)	Gruppo			DSR
	Sani	Con mastite da <i>S.aureus</i>	Con mastite da <i>Str.agalactiae</i>	
Soggetti (n.)	4197	539	400	-
PUNT	80.0 B	80.2 B	79.7 A	1.9
STAT	27.0 B	27.1 B	25.7 A	5.9
FORZ	26.9 B	27.2 B	25.6 A	5.1
PROF	27.8 B	28.3 B	26.8 A	5.1
ANGO	26.2	26.0	26.1	5.4
ANGR	25.5	26.0	26.0	6.9
LARG	25.1 B	26.2 C	23.7 A	6.3
ARTI	26.9 B	26.4 B	25.2 A	6.4
ARTID	21.3	22.1	20.6	7.4
PIED	25.6 B	25.2 B	23.6 A	6.5
ARPI	20.8	22.4	25.6	6.6
MANT	25.6 a	25.9 ab	26.9 b	6.6
ALTP	23.2 A	24.3 B	23.5 AB	5.9
LARP	27.3	27.7	26.9	6.5
LEGA	28.2 A	28.5 AB	29.0 B	5.8
PROM	29.7	29.0	29.8	6.9
SIMM	24.5 B	23.5 A	25.6 C	6.4
CAPP	25.0	25.0	25.7	5.9
CAPD	24.0	24.0	23.9	6.2

(\*) vedi tabella n.2.

A, B, C:  $P<0.01$ ; a, b :  $P<0.05$ .

Tabella n.5 - Indici genetici morfologici in soggetti sani o che svilupperanno mastite da *S.aureus* e *Str.agalactiae* (n. = 5136).

Codice parametro (*)	Gruppo			DSR
	Sani	Con mastite da <i>S.aureus</i>	Con mastite da <i>Str.agalactiae</i>	
Soggetti (n.)	4197	539	400	-
VPUN	-5 b	-7 ab	-15 a	58
SST	-20	-11	-30	103
SFV	-8	-1	-8	99
SPR	-14	-6	-23	102
SAN	-31 B	-35 B	-62 A	111
GAN	-9	-9	-8	111
GLA	-18 b	-3 c	-32 a	114
AVL	-7 B	-21 A	-27 A	112
PAN	-10 a	5 b	-14 a	110
MFA	-26 B	-26 B	-40 A	110
MAL	-32 B	-40 B	-58 A	107
MLA	-37	-45	-51	113
MLE	-27 B	-34 B	-51 A	104
MPR	-3	4	-5	107
CVD	-31 B	-34 AB	-44 A	108
CDI	4	11	4	102
ICM	-23 B	-24 B	-38 A	75

(\*) vedi tabella n.3.

A, B:  $P < 0.01$ ; a, b, c :  $P < 0.05$ .

colare patogenesi di tale mastite, che vede coinvolta, in modo particolare, la scarsa igiene di allevamento e, in generale, uno scarso livello di managerialità dell'allevatore (ZECCONI, 1996). A tali condizioni sarebbe necessariamente legata la presenza di bovine con scadenti punteggi morfologici e basso livello genetico. Altri tipi di mastite (*S.aureus*) potrebbero essere riconosciute come malattie condizionate, o "malattie da benessere", legate a condizioni manageriali più corrette, e, come tali, da mettere in relazione con buoni punteggi e indici. In tale ottica potrebbe anche essere visto il comportamento degli animali sani, nei quali non si assiste alla presenza di una morfologia (in particolare della mammella) migliore rispetto ad alcune categorie di animali malati.

L'analisi della varianza mette quindi in luce solo parzialmente la complessità del fenomeno, individuando una tipologia di mastite legata ad una scadente morfologia, ma non mettendo in evidenza parametri morfologici legati in particolare ad una condizione di sanità della mammella.

Per cercare di individuare una particolare combinazione di punteggi morfologici e/o indici genetici morfologici in grado di spiegare l'acquisizione o meno di mastite, si è fatto ricorso all'analisi della regressione multipla (tabella n. 6), secondo la procedura stepwise, utilizzando come variabili indipendenti i suddetti parametri e come

Tabella n.6 - Coefficienti di regressione multipla secondo la procedura stepwise [variabile dipendente = presenza (-1) o assenza (+1) di mastite; variabili indipendenti = punteggi morfologici e indici genetici morfologici] ottenuti elaborando i residui e i dati grezzi.

Parametro	Sui residui		Sui dati grezzi	
		P		P
Costante	0.39776	<0.001	0.32601	<0.01
STAT	0.01036	<0.01	0.01812	<0.001
FORZ	-	-	-0.01084	<0.05
ARTI	0.00451	<0.05	0.00480	<0.01
ALTP	-	-	-0.01076	<0.001
SST	-0.00048	<0.05	-0.00094	<0.001
MAL	-	-	0.00061	<0.001
MLE	0.00062	<0.001	0.00053	<0.001
CVD	-0.00044	<0.01	-0.00045	<0.001
n.	6061		6061	
R <sup>2</sup>	0.006		0.009	
ES	0.9149		0.9136	
P regr.	<0.001		<0.001	

dipendente una variabile rappresentata da valori associati alla mancanza di mastite (+1) o alla sua presenza (-1). In tal modo un segno algebrico negativo davanti ad un coefficiente indicherebbe una tendenza dell'animale a manifestare la mastite per valori crescenti della variabile indipendente e viceversa.

L'analisi é stata condotta sia sui dati grezzi che sui residui, ottenuti correggendo i primi per i fattori quantità di latte prodotta e giorni di lattazione al momento del controllo morfologico e della diagnosi di mastite. È nota infatti la forte influenza esercitata, soprattutto dalla prima di queste variabili, sulla insorgenza della mastite. Focalizzando l'attenzione sulla equazione ottenuta sui residui (colonna due della tabella n. 6) si nota che statura e arti, fra i punteggi morfologici, insieme agli indici genetici relativi a statura, forza-vigore, legamento centrale e posizione dei capezzoli, sono i fattori che risultano compresi nella equazione proposta. Poiché l'analisi é condotta sui residui, l'effetto di tali variabili è da considerare a parità di produzione latte, di giorni di lattazione e giorni di distanza dalla diagnosi di mastite. Quindi bovine morfologicamente più alte e con appiombi corretti agli arti posteriori (visti da dietro) hanno una maggiore tendenza a non manifestare mastite. Allo stesso modo si comportano le bovine con elevati valori di indice genetico per il legamento centrale. Gli indici genetici per statura e capezzoli visti da dietro presentano invece coefficienti con segno negativo.

Stranamente nessun punteggio morfologico della regione mammaria è risultato in relazione con l'acquisizione di mastite, probabilmente perché la correzione per la produzione di latte ha di fatto annullato tale connessione: al contrario il parametro altezza posteriore della mammella, nella equazione calcolata sui dati grezzi, presenta un coefficiente negativo, perché contiene in sé la quota di variabilità relativa alla

produzione di latte e, in conseguenza di ciò, alla maggiore predisposizione alla mastite. Correggendo per la produzione, il parametro altezza posteriore viene escluso dall'equazione.

### *Conclusioni*

La morfologia dell'animale gioca quindi un ruolo significativo nella insorgenza delle mastiti, insieme naturalmente a numerosi altri fattori, di natura endogena ed esogena, che fanno di tale manifestazione morbosa una vera e propria patologia condizionata.

Con riferimento alla morfologia, l'esame della bibliografia ha in realtà messo in luce che scarse sono le nozioni circa i rapporti fra i punteggi morfologici e l'insorgenza delle mastiti. Una cosa è infatti verificare che mammelle con evidenti difetti morfologici e strutturali sono maggiormente coinvolte nell'acquisizione di una mastite, un'altra cosa è verificare se la tipologia di un animale, così come risulta dalle indicazioni selettive in un determinato comprensorio, può essere associata, in modo indiretto, anche ad una variazione nel livello di resistenza alle mastiti. In tale direzione sono infatti rivolti gli obiettivi del presente lavoro.

La ricerca ha permesso di rilevare che bovine con punteggi finali più bassi e con valori inferiori nella valutazione di alcune regioni vanno più facilmente incontro a mastite da *Str. agalactiae*; dato questo da spiegarsi con una bassa managerialità dell'allevatore e con la presenza di bovine di basso livello genetico. Al contrario, la mastite da *S. aureus*, tra l'altro in netto aumento negli ultimi 50 anni, (ZECCONI, 1996), sembra da imputarsi a un livello di managerialità che porta al limite lo sfruttamento delle potenzialità produttive delle bovine, accompagnato dalla presenza di buoni punteggi morfologici ed indici genetici.

Una seconda considerazione che emerge dal complesso dei risultati ottenuti, riguarda l'influenza del livello produttivo sull'insorgenza delle mastiti, dato questo ampiamente confermato dalla letteratura; infatti i caratteri morfologici strettamente correlati alla mammella, che risultano esaltare questo carattere (che nei dati grezzi sono correlati positivamente alla presenza di mastiti), vengono ad essere annullati quando, mediante l'analisi sui residui, si corregge l'analisi dei dati grezzi per i fattori quantità di latte prodotto e giorni di lattazione al momento del controllo morfologico e diagnosi di mastite. Sempre dall'analisi sui residui, è emerso, che i caratteri correlati con una riduzione dell'incidenza delle mastiti sono la statura e gli arti, fra i punteggi morfologici, e, fra gli indici genetici, quelli relativi a statura, legamento centrale e posizione dei capezzoli; quindi, bovine morfologicamente più alte e con appiombi (visti da dietro) corretti, sono meno predisposte ad avere mastiti, così come lo sono bovine che hanno un elevato indice genetico per il legamento centrale e un ridotto indice genetico per statura e posizione dei capezzoli.

**Parole chiave:** bovine da latte, morfologia, mastite.

**Key words:** *dairy cows, type evaluation, mastitis.*

**RIASSUNTO** - Gli Autori espongono i risultati di una ricerca condotta su 6061 bovine da latte di razza Frisona italiana, sottoposte a prelievi sterili di latte nel corso della

lattazione per la diagnosi batteriologica di mastite. La ricerca ha permesso di rilevare che bovine con punteggi finali più bassi e con valori inferiori nella valutazione morfologica di statura, forza-vigore, profondità, larghezza della groppa, arti e piedi ( $P<0,01$ ), nonché negli indici genetici morfologici relativi a punteggio finale ( $P<0,05$ ), angolosità, arti visti di lato ( $P<0,01$ ), larghezza groppa, angolo piedi ( $P<0,05$ ), forza attacco anteriore, altezza attacco posteriore, legamento centrale, posizione capezzoli e indice complessivo mammella ( $P<0,01$ ), vanno più facilmente incontro a mastite da *Str. agalactiae*. Correggendo i dati per il livello produttivo delle bovine, è inoltre risultato che la mastite, indipendentemente dall'agente eziologico, risulta associata ai punteggi morfologici per statura e arti e agli indici genetici relativi a statura, legamento centrale e posizione dei capezzoli.

**SUMMARY - RELATIONSHIPS BETWEEN TYPE EVALUATIONS AND MASTITIS IN ITALIAN FRIESIAN DAIRY COWS.**

*The Authors refer the results of a research carried out on 6061 Italian Friesian dairy cows, subjected to sterile milk drawing during lactation for mastitis diagnosis. Cows with a lower final score and with a lower value for stature, strength, depth, rump width, legs and feet ( $P<0.01$ ) and a lower type index for final score ( $P<0.05$ ), angularity, legs (side view) ( $P<0.01$ ), rump width, foot angle ( $P<0.05$ ), strength of fore udder, rear udder height, central ligament, teat position and udder composite index ( $P<0.01$ ) more easily show mastitis caused by *Str. agalactiae*. After data correction for productive level, mastitis, regardless to aetiology, resulted associated with type evaluations for stature and legs and with genetic indexes for stature, central ligament and teat position.*

**Ringraziamenti** - Gli Autori ringraziano l'ANAFI (Associazione Nazionale Allevatori Frisone Italiana) per aver messo a disposizione i dati produttivi nonché i punteggi morfologici e gli indici genetici delle bovine.

*Bibliografia*

- ANAFI (1998) - La valutazione lineare della Frisone Italiana. Quaderni Frisone.
- APPLEMAN, R.D. (1970) - Quantifying the genetic effects on the anatomy of the streak canal. Proc. VI Int. Conf. Cattle Dis :104.
- APPLEMAN, R.D. (1973) - Subjective evaluation of teat canal anatomy. Journal of Dairy Science. 56:411.
- BAKKEN, G. (1981) - Relationships between udder and teat morphology, mastitis and milk production in Norwegian Red cattle. Acta Agric. Scand. 31:28.
- BALLARINI, G. (1994) - Malattie della bovina da latte ad alta produzione BLAP, Edagricole, Bologna.
- BOETTCHER, P.J., DEKKER, J.C.M., KOLSTAD, B.W. (1998) - Development of an udder health index for sire selection based on somatic cell score, udder conformation, and milking speed. Journal of Dairy Science 81:1157-1168.
- CHRYSAL, M.A., SEYKORA, A.J., HANSEN, L.B. (1999) - Heritabilities of Teat

End Shape and Teat Diameter and Their Relationships with Somatic Cell Score. *Journal of Dairy Science*. 82:2017-2022.

DE JONG, G., LANSBERGEN, L. (1996) - Udder health index: selection for mastitis resistance. Pages 42-47 in INTERBULL Bull. no. 12. Int. Bull Eval. Serv., Gembloux, Belgium.

FARNSWORTH, R.J., SIEBER, R.L., MCKEEVER, P.J. (1978) - The relationship of teat lesions to machine milking. Page 221 in Proc. Natl. Mastitis Counc. Annu Mtg.

FIEDLER, H., BREITENSTEIN, K.G., PIUR, S., HERRENDORFEN, G. (1982) - Genetic studies on milkability and udder conformation. *Arch. Tierz.*25 (2):87.

GARJKAVYI, F. (1969) - Selection of cows for mastitis resistance. *Anim. Breeding Abstr.* 37:310.

GREGA, T., SZAREK, J. (1982) - Influence of size of teat canal on the results of field cell counts on milk. *Med. Weter.* 38:366.

GROEN, A.F., HELLINGA, I., OLDENBROEK, J.K. (1994) - Genetic correlations of clinical mastitis and feet and legs problems with milk yield and type traits in Dutch Black and white dairy cattle. *Neth. J. Agric. Sci.* 42:371-378.

GROMMERS, F.J., VAN DE BROEK, A.E., ANTONISSE, H.W. (1971) - Direct trauma of the mammary glands in dairy cattle. I. Variations in incidence due to animal variables. *Br. Vet. J.*127:271.

HICKMAN, G.C. (1964) - Teat shape and size in relation to production characteristics and mastitis in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*. 47:777.

HODGSON, A.S., MURDOCK, F.R.(1980) - Effect of teat-end shape on milking rate. *Journal of Dairy Science*. 63 (Suppl. 1):147. (Abstr.).

JACKSON, E.R. (1970) - An outbreak of teat scores in a commercial dairy herd possibly associated with milking machine faults. *Vet. Rec.* 87:2.

JOHANSSON, V.I. (1957) - Untersuchungen über die Variation in der Euter-und Strich Form der Kuhe. *Z.Tierz. Zuchtungsbiol.* 70:233.

JOHANSSON, V.I., MALVEN, P. (1960) - The influence of yield, udder pressure, size of teats and of teat orifice on the rate of milking. *Z. Tierz. Zuchtungsbiol.* 74:1.

LAWSTUEN, D.A., HANSEN, L.B., STEUERNAGEL, G R., JOHNSON, L.P. (1988) - Management traits scored linearly by dairy producers. *Journal of Dairy Science*. 71:788-799.

LOJDA, L., STAVIKOVA, M., MATOUSKOVA, O. (1976) - The shape of the teat and teat end and the location of the teat canal orifice in relation to subclinical mastitis in the cattle. *Acta. Vet. Brno.* 45:181.

LUND, T., JENSEN J. (1996) - Genetic and phenotypic parameters for clinical mastitis, somatic cell production deviance and protein yield in dairy cattle. In Proc. 47th Annu. mtg. Eur. Assoc.Anim. Prod., Lillehammer, Norway, Wageningen Pers, Wageningen, The Netherlands, p.4.

LUND, T., MIGLIOR, F., DEKKERS, J.M.C., BURNSIDE, E.B. (1994) - Genetic

relationships between clinical mastitis, somatic cell count, and udder conformation in Danish Holsteins. *Livest. Prod. Sci.* 39:243-255.

MACHA, J., MANAKOVA, K., MASEK, N. (1981) - Udder shape and occurrence of mammary gland inflammation in cattle. *Acta Univ. Agric. Fac. Agron.* 29:203.

McDONALD, J.S. (1975) - Radiographic method for anatomic study of the teat canal: characteristics related to resistance to new intramammary infection during lactation and the early dry period. *Cornell Vet.* 65:492.

RATHORE, A.K. (1976) - Relationships between teat shape, production and mastitis in Friesian cows. *Br. Vet. J.* 132:389.

RATHORE, A.K. (1977a) - Teat shape and production associated with openings and prolapse of the teat orifice in Friesian cows. *Br. Vet. J.* 133:254.

RATHORE, A.K. (1977b) - Teat shape, teat cup crawl and milk production in Guernsey and Australian Illawara Shorthorn cows. *Br. Vet. J.* 133:454.

RATHORE, A.K., SHELDRAKE, R.F. (1977) - Teat orifice stretchability associated with teat diameter gradient and milk yield in first lactation cows. *Anim. Prod.* 24:215.

ROGERS, G.W., HARGROVE, G.L., LAWLOR, T.J., EBERSOLE, J. L. (1991) - Correlations among linear type traits and somatic cell counts. *Journal of Dairy Science.* 74:1087-1091.

SEYKORA, A.J. (1983) - Genetic parameters of udder and teat characteristics and their relationships to somatic cell counts. Ph. D. Diss., North Carolina State Univ., Raleigh.

SEYKORA, A.J., McDANIEL, B.T. (1986) - Genetics statistics and relationships of teat and udder traits, somatic cell counts and milk production. *Journal of Dairy Science.* 69:2395-2407.

SIEBER, R.L., FARNSWORTH, R.J. (1981) - Prevalence of chronic teat-and lesions and their relationship to intramammary infection in 22 herds of dairy cattle. *J. Anim. Vet. Med. Assoc.* 178:1263.

YOUNG, C.W., LEGATES, J.E., LECCE, J.G. (1960) - Genetic and phenotypic relationship between clinical mastitis, laboratory criteria and udder height. *Journal of Dairy Science* 43:54.

ZECCONI, A. (1996) - L'importanza del controllo delle mastiti per la produzione e la qualità del latte. *Informatore Agrario*, 36, 16-19.

**RICOTTA VACCINA TRADIZIONALE PRODOTTA  
NEL COMPRESORIO DEL PARMIGIANO-REGGIANO:  
VALUTAZIONE DEL PROFILO MICROBIOLOGICO\***

Brindani F.<sup>1</sup>, Pizzin G.<sup>1</sup>, Bonardi S.<sup>1</sup>, Bacci C.<sup>1</sup>

*Introduzione*

La ricotta è un prodotto lattiero-caseario di antica origine, conosciuta già all'epoca dei Greci e dei Romani, la cui etimologia risale al termine latino *recoctus*, vale a dire cotto due volte. Questo prodotto viene descritto e citato da numerosi poeti, letterati e scrittori quali Columella, Virgilio e, più tardi, dal Boccaccio (1313-1375) e dal Berni (1497-1535) (Salvadori O., 1992).

Si ha conoscenza della sua produzione già dal testo più antico, fino ad oggi conosciuto, di trattazione sistematica dei prodotti di derivazione del latte: il “*Summa Lacticinarum*” di Pantaleone da Confnenza, pubblicato nel 1477, compendio di tecnica casearia (Naso I., 1990). Quest’opera, articolata in tre parti, riporta al capitolo quarto del terzo trattato la descrizione dei *seracia*.

Il *magister formagerius* ricavava il *seracium* o *seracius* o *seratium* (da “*serum*” = siero di latte) dalla bollitura del siero inagrito, con l’aggiunta di una certa quantità di latte intero. Si otteneva in tal modo un prodotto che assumeva differenti denominazioni secondo il luogo di produzione: *mascherpa* in Lombardia e nel Veneto, *seiràs* in Piemonte e *recocta* nelle zone centro-meridionali (Giaccone V. et al., 1999).

Attualmente la ricotta viene definita dall’UNI, (Ente Nazionale Italiano di Unificazione, 1997), come un “prodotto lattiero caseario semisolido, non stagionato, ottenuto per coagulazione acidotermica di siero di latte, eventualmente addizionato di latte e/o crema di latte e/o crema di siero di latte”.

Secondo il criterio di classificazione dei formaggi e dei latticini, proposto da Ottagalli nel 1991, la ricotta rientra fra i latticini ottenuti per coagulazione tramite calore, con crosta assente e pasta molle, non stagionata e senza microflora tipica, poiché quella riscontrabile è da attribuirsi ad una contaminazione secondaria del prodotto.

In tal senso il prodotto rispecchia le condizioni igieniche di lavorazione e di stoccaggio: i microrganismi in esso presenti fungono, pertanto, da indicatori del processo di produzione e di commercializzazione.

La ricotta è stata relegata per moltissimi anni al ruolo di alimento povero il cui consumo era limitato, per lo più, a persone con basso reddito. Ora, sulla scia della valorizzazione di molti alimenti un tempo considerati “marginali”, questa produzione viene apprezzata dal consumatore e ciò è confermato dall’incremento, negli ultimi anni, della produzione e delle vendite.

---

\*Ricerca parzialmente eseguita con contributo FIL 2001.

<sup>1</sup> Dipartimento di Salute Animale, Sezione di Ispezione degli Alimenti di origine animale, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università di Parma.

I dati di riferimento sono, comunque, di stima, poiché è molto difficile valutare la diffusione commerciale di tale prodotto nella variegata industria lattiero-casearia. Dai dati raccolti, l'incremento della produzione dal 1993 fino al '99 è del 9,6% e, nello stesso periodo, le vendite al dettaglio sono aumentate del 20%.

I maggiori canali di vendita di questo prodotto sono costituiti dalla grande distribuzione, dalla distribuzione organizzata e dai "negozi indipendenti"; tra questi ultimi si possono inserire, se non altro per esclusione, anche i caseifici.

La vendita al dettaglio avviene, nella maggioranza dei casi, presso i "negozi indipendenti" anche se i dati relativi al 1998 e al 1999 evidenziano un minor utilizzo di questo canale di vendita come conseguenza della chiusura di un rilevante numero di esercizi, a favore della grande distribuzione (Angeli F., 2000).

La ricotta è costituita essenzialmente da sieroproteine, rappresentate da globuline, albumine, b-lattoglobuline, lattoalbumine e proteoso-peptoni, nonché da grassi in percentuale variabile dal 4 al 5% (Del Bono e Stefani, 1997). Le ricotte fresche hanno un elevato valore nutrizionale e, per il loro trascurabile contenuto in amine o in altri prodotti di fermentazione, risultano particolarmente preziose nell'alimentazione di soggetti con disfunzioni metaboliche. (Cosseddu A. M. et al. 1997; Tantillo G., Aprile A. 2000).

Nel comprensorio di produzione del Parmigiano-Reggiano questo prodotto secondario è consumato sia tal quale, sia come ingrediente di numerose preparazioni gastronomiche tipiche quali, ad esempio, paste fresche ripiene e dessert alla frutta o al cioccolato.

Si producono, attualmente, sia ricotte fresche tradizionali, caratterizzate da 5-6 giorni di conservazione, oggetto della presente ricerca, sia ricotte a conservabilità media (shelf-life di 20-30 giorni) ed a lunga conservazione (60-90 giorni). Le ricotte tradizionali fresche presentano una composizione molto variabile, soprattutto per quanto riguarda i grassi e l'umidità. Questo aspetto, assieme al rischio sanitario non ancora ben delineato ed alla scarsa conservabilità, rappresenta un fattore limitante del successo commerciale della ricotta artigianale nelle importanti catene di distribuzione del "fresco", dove si preferisce un prodotto industriale.

Alla luce delle considerazioni sopra riportate, essendo l'aspetto igienico sanitario, almeno relativamente alle ricotte vaccine prodotte artigianalmente, estremamente vario, ci è parso interessante monitorarne alcune caratteristiche microbiologiche valutandone il rischio per il consumatore. Pure interessante appare ipotizzare l'evoluzione di alcuni microrganismi patogeni, eventualmente riscontrati nei campioni di ricotta esaminati, magari in quelle condizioni di abuso termico che potrebbero verificarsi in ambito domestico.

## *Materiali e Metodi*

### **Modalità di campionamento**

I campioni esaminati in questa ricerca sono stati reperiti, nel periodo compreso tra Febbraio e Maggio del 2001, presso dieci caseifici, situati prevalentemente nella zona collinare, delle provincie di Parma e Reggio Emilia, nonché da otto banchi vendita dei mercati rionali delle suddette provincie. Complessivamente sono stati prelevati 50 campioni di ricotta vaccina (36 dai caseifici e 14 dai banchi vendita) che, con-

servati nel pre-incarto, sono stati trasportati al laboratorio in regime di refrigerazione e subito esaminati. Il peso delle unità campionate era compreso fra un minimo di 200 g ed un massimo di 500.

Gli esami microbiologici eseguiti erano orientati sia all'individuazione di microrganismi indicatori di un probabile inquinamento fecale dell'alimento, quali coliformi termotolleranti, *Escherichia coli* e clostridi solfito-riduttori, sia di batteri responsabili di tossinfezioni alimentari, quali *Salmonella enterica*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* O157:H7, *Yersinia enterocolitica*, *Clostridium perfringens* e *Bacillus cereus*. Contemporaneamente si è provveduto alla determinazione dei valori del pH e dell'attività dell'acqua ( $a_w$ ) di ogni unità campionata.

### **Microrganismi indicatori di inquinamento fecale**

La ricerca di *Escherichia coli* è stata eseguita utilizzando il terreno Violet Red Bile Agar (VRBA, Oxoid), addizionato del supplemento MUG della Ditta Oxoid, incubato a 44° C per 24 ore; la conferma delle colonie sospette ha richiesto la prova dell'indolo a 44° C e la crescita/produzione di gas in brodo verde brillante bile a 44° C.

La ricerca dei clostridi solfito-riduttori, e di *Cl. perfringens*, è stata condotta utilizzando il terreno Sulphite Polimixin Sulphadiazine, (SPS Agar Oxoid), incubato in anaerobiosi a 37° C per 48 ore.

Per i coliformi termotolleranti è stato utilizzato il terreno (VRBA, Oxoid) a 44° C per 24 ore, con successiva conferma delle colonie sospette in brodo verde brillante bile a 44° C.

### **Microrganismi agenti di tossinfezioni alimentari**

La determinazione della presenza di *Salmonella enterica* è stata condotta seguendo, in parte, la metodica ISO 6785 (1985): la fase di prearricchimento (25 g del campione in 225 ml di BPW, Oxoid) a 37° C per 16-20 ore è stata seguita dalla semina di 1 ml della brodocoltura in 10 ml di brodo Selenito-Cistina (Oxoid) e di 0,1 ml in 10 ml di brodo Rappaport-Vassiliadis (Oxoid). I due brodi di arricchimento sono stati incubati, rispettivamente, a 37° C per 24 e 48 ore, ed a 42° C per 24 ore. La piastratura è stata eseguita su Brilliant Green Agar (BGA Oxoid), Hektoen Enteric Agar (HEA Oxoid) e Xylose Lysine Tergitol-4 agar (XLT-4 Agar Remel). Le piastre sono state incubate a 37° C per 24 ore e, in assenza di colonie sospette, per ulteriori 24 ore. Le colonie caratteristiche sono state trapiantate in Triple Sugar Iron Agar (LAB-M), sottoposte alla prova dell'ureasi in terreno all'urea (LAB-M) ed infine saggiate con il kit API 20 E ® (bioMérieux).

Per *L. monocytogenes* si è seguita la metodica ISO 10560 (1993), la quale prevede che 25 g del campione siano diluiti con 225 ml di Listeria Enrichment Broth (Biokar Diagnostic) ed incubati a 30° C per 48 ore. Dopo piastratura su Oxford Agar (Merck) ed incubazione a 37° C per 48 ore, le colonie sospette sono state sottoposte al CAMP test ed alle prove biochimiche del sistema API Listeria ® (bioMérieux). La ricerca di *L. monocytogenes* è stata eseguita anche con il sistema VIDAS-LMO (bioMérieux), basata sul metodo ELFA (enzyme-linked-immunofluorescent-assay). L'arricchimento di 25 g del campione in 225 ml di brodo Half-Fraser (bioMérieux), eseguito a 30° per 24 ore, è seguito da un passaggio di 0,1 ml della brodocoltura in 10 ml di brodo Fraser (bioMérieux). Dopo incubazione a 30° C per 24 ore, sono stati

trasferiti 500 µl nell'apposita cartuccia VIDAS-LMO (bioMérieux): la presenza o l'assenza del patogeno viene rivelata nell'arco di 70 minuti dall'apposito strumento mini-VIDAS (bioMérieux).

Per *E. coli* O157:H7 si è effettuato un arricchimento di 25 g del campione in 225 ml di m-TSB (Oxoid), addizionato di acriflavina (10 mg/l) e casaminoacidi (10 mg/l) (Padhye e Doyle, 1991), a 37° C per 20-24 ore, seguito dall'immunoseparazione magnetica con Dynabeads® anti-*E. coli* O157 (Dynal) e semina su Cefixime-Tellurite Sorbitol MacConkey Agar (CT-SMAC; Oxoid). Le colonie sorbitolo negative sono state saggiate per la produzione di indolo e sottoposte ad agglutinazione rapida per gli antigeni O157 e H7 ("*E. coli* O157 Test Kit", Oxoid; *E. coli* H7 serum", Biogenetics).

Per la ricerca di *Y. enterocolitica* è stata applicata la metodica dell'arricchimento a freddo: 25 g del campione sono stati diluiti in 225 ml di PBS (Oxoid). Un'ansata è stata seminata su Yersinia Selective Agar Base (Oxoid), incubato a 30° C per 48 ore. Il campione diluito 1:10 in PBS è stato conservato a +4° C per 21 giorni e piastrato, ad intervalli settimanali, sul terreno selettivo (Zheng e Xie, 1996). Le colonie sospette sono state trapiantate in TSI, saggiate per la produzione di ureasi e testate con il sistema API 20 E®.

### **Modello di microbiologia predittiva**

Le ipotesi di microbiologia predittiva sono state formulate utilizzando il programma USDA Pathogen Modelling Program, USDA/ARS Eastern Regional Research Center Microbial Food Safety Research Unit. Questo modello, messo a punto da R. L. Buchmann e R.C. Whiting, costituisce un metodo sperimentale per stimare gli effetti che variabili multiple ( $a_w$ , pH, T°, [NaCl], presenza di O<sub>2</sub>) hanno sulla crescita e/o sopravvivenza di patogeni alimentari.

### *Risultati*

#### **Parametri chimico-fisici**

I risultati relativi alla determinazione del pH e della  $a_w$  sono riportati nella tabella n.1, che evidenzia come il valore medio di pH (6,22) dei campioni prelevati dai caseifici appaia leggermente superiore a quello evidenziato dai campioni reperiti dai banchi vendita (6,44). Tale differenza può, verosimilmente, ricondursi alla moltiplicazione di batteri lattici nel periodo intercorso dalla produzione alla commercializzazione.

Relativamente ai valori di  $a_w$ , compresi tra 0,961 e 0,978 sono stati rilevati dati sovrapponibili per entrambe le produzioni.

#### **Microrganismi indicatori di inquinamento fecale**

Relativamente a *E. coli*, la metodica da noi utilizzata, con un livello di sensibilità di 10 cellule/g, non ne ha rilevato la presenza in alcun campione. Identici risultati sono stati evidenziati per i clostridi solfito riduttori.

Differente appare la distribuzione dei coliformi termotolleranti. Come è possibile rilevare dal figura n. 1, questo tipo di microrganismi è presente ad un livello inferiore alle 10 cellule/g, in tutti i campioni provenienti dai caseifici, mentre in quelli dei banchi vendita tale risultato si ottiene in 10 unità campionate; nelle rimanenti i

Tabella n. 1 - Caratteristiche chimico-fisiche dei campioni di ricotta vaccina.

		<i>Provenienza campioni</i>	
		<i>Caseificio</i>	<i>Banchi vendita</i>
pH	massimo	6,71	6,70
	Medio	6,44	6,22
	Minimo	6,03	5,25
a <sub>w</sub>	massimo	0,978	0,975
	Medio	0,967	0,968
	Minimo	0,961	0,963

coliformi termotolleranti sono presenti in un quantitativo pari a  $10^4$  ufc/g (un campione), a  $10^5$  ufc/g (due campioni), e a  $10^7$  ufc/g (un campione).

#### **Microrganismi agenti di tossinfezioni alimentari**

I risultati della ricerca di tali microrganismi sono riportati nella tabella n. 2, dalla quale si evidenzia che *Yersinia enterocolitica*, *Cl. perfringens* e *E. coli O157:H7*, non sono stati isolati dai campioni, a differenza di *Salmonella enterica*, *L. monocytogenes*, *S. aureus* e *B. cereus*.

In un solo campione è stata riscontrata la presenza di *Salmonella enterica* che, alla successiva tipizzazione, è risultata appartenere al sierotipo Salmonella Bredney.

*L. monocytogenes* è presente rispettivamente in una ricotta proveniente da caseifici (sierotipo O4) e in una prelevata dai banchi vendita (sierotipo O1). Inoltre, da un

Figura n. 1 - Presenza di coliformi termotolleranti nei campioni di ricotta vaccina di diversa provenienza. Le percentuali sono calcolate sul numero complessivo dei campioni.

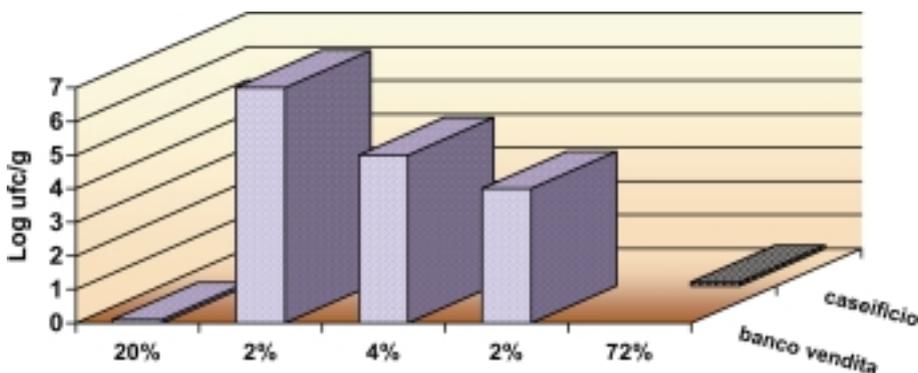


Tabella n. 2 - Microrganismi potenzialmente patogeni e potenzialmente tali rilevati nei campioni di ricotte vaccine fresche.

Microrganismi	Provenienza			
	Caseificio (36)		Banchi vendita (14)	
	Campioni positivi	Sierotipo	campioni positivi	Sierotipo
<i>S. enterica</i>	1 (2,8%)	S. Bredenej	-	-
<i>Listeria spp.</i>	1 (2,8%)	<i>L. monocytogenes</i> O4	2 (14,3%)	<i>L. monocytogenes</i> O1 <i>L. welshimeri</i>
<i>S. aureus</i>	5 (13,9%)	-	3 (21,4%)	-
<i>B. cereus</i>	2 (5,6%)	-	1 (7,1%)	-
<i>E. coli</i> O157:H7	-	-	-	-
<i>Yersinia enterocolitica</i>	-	-	-	-
<i>Cl. perfringens</i>	-	-	-	-

campione proveniente dai banchi vendita, è stata anche isolata la specie *L. welshimeri*.

La determinazione quantitativa di *S. aureus* ha messo in evidenza valori più elevati nei campioni prelevati direttamente dai caseifici, che hanno evidenziato un valore massimo di  $10^2$  ufc/g. La presenza di ceppi *S. aureus* coagulasi positivi ( $10^4$  ufc/g), è stata rilevata soltanto in un campione di ricotta prelevata dai banchi vendita.

*B. cereus*, infine, è risultato presente in un campione acquistato da un banco vendita ( $7 \times 10^2$  ufc/g) ed in due campioni provenienti dai caseifici ( $2 \times 10^2$  e  $3 \times 10^3$  ufc/g).

### Modello di microbiologia predittiva

E' stata presa in considerazione l'evoluzione della flora patogena nel prodotto, nell'eventualità di una sua conservazione a 25° C. Tali condizioni potrebbero verificarsi, in ambito domestico, qualora la ricotta non fosse mantenuta alla temperatura di refrigerazione nel periodo estivo.

Una prima ipotesi di sviluppo microbico è stata suggerita dalla presenza di *S. aureus* coagulasi positivo ( $4 \times 10^4$  ufc/g), in un campione che ha presentato condizioni di pH pari a 6,4 e una concentrazione salina di 0,5% di NaCl.

La presenza, in 25 g di prodotto, di *Salmonella enterica*, sierotipo Bredenej, in un campione e di *L. monocytogenes* in altri due, ha portato ad ipotizzare, nelle condizioni di temperatura e di pH prima ricordate, anche il rischio relativo all'incremento di questi microrganismi. Nel caso di *L. monocytogenes* è stata considerato pure il valore relativo alla  $a_w$  (0,97).

Relativamente ad *S. aureus* il modello di sviluppo indica che il livello di pericolosità ( $10^6$  ufc/g) si può raggiungere, già dopo 6 ore con un tempo di duplicazione del microorganismo di 54 minuti e dopo una fase di latenza di 1,6 ore (figura n. 2).

*S. enterica* raggiunge la concentrazione di pericolosità ( $10^6$  ufc/g) in 16,8 ore dopo una fase lag della durata di 4,1 ore ed un ritmo di duplicazione di 30 minuti.

*L. monocytogenes*, infine, appare presente alla concentrazione di  $10^5$  ufc/g, livello ritenuto patogeno anche per soggetti immunocompetenti (Aureli P., et al., 2000) dopo 28 ore.

### Considerazioni e Conclusioni

I risultati emersi nel corso della nostra indagine, hanno evidenziato che i campioni reperiti a livello di caseificio presentano un buon livello igienico, essendo praticamente assenti ( $< 10$  ufc/g) sia coliformi termotolleranti sia clostridi solfito riduttori. In alcuni campioni, però, la presenza di *S. aureus*, di *B. cereus* e, relativamente a due di questi, di Salmonella Bredeney e di *L. monocytogenes* sierotipo O4, può avanzare qualche dubbio sull'assoluta sicurezza del prodotto.

I campioni provenienti dai banchi vendita, inevitabilmente sottoposti ad ulteriori manipolazioni (Carminati D., et al., 2001), evidenziano un livello igienico più scadente, confermato dalla presenza, in alcuni di essi, di coliformi termotolleranti, oltre che di *S. aureus* coagulasi positivo e di *L. monocytogenes* sierotipo O1.

Il modello di microbiologia predittiva, riferentesi all'eventualità di abuso termico ( $25^\circ\text{C}$ ), evidenzia il raggiungimento di un effettivo livello di pericolosità per *S. aureus* già dopo 6 ore di permanenza a tale temperatura, mentre per *S. Bredeney* e *L. monocytogenes* il pericolo si concretizzerebbe rispettivamente dopo 16 e 28 ore.

Figura n. 2 - Curva di sviluppo di *S. aureus* nella ricotta vaccina in condizioni di abuso termico ( $25^\circ\text{C}$ ).

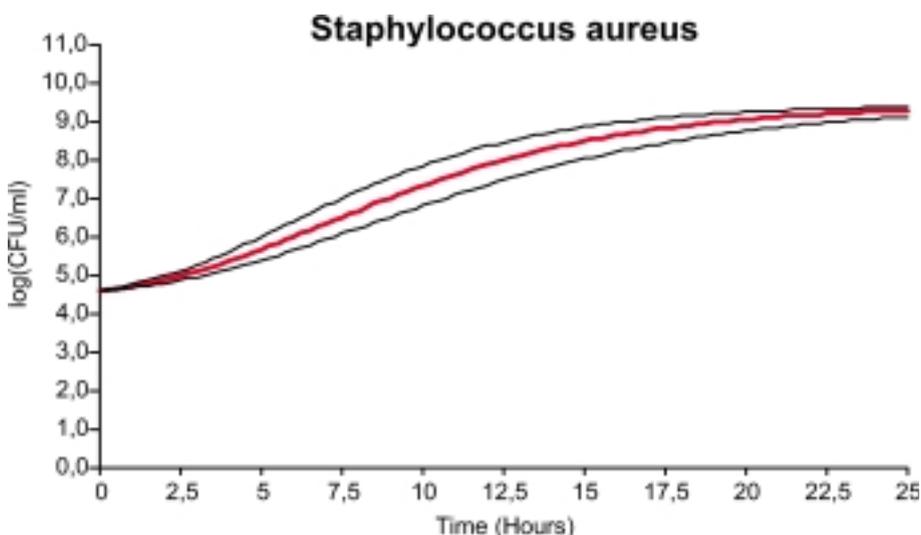


Figura n. 3 - Curva di sviluppo di *S. enterica* nella ricotta vaccina in condizioni di abuso termico (25° C).

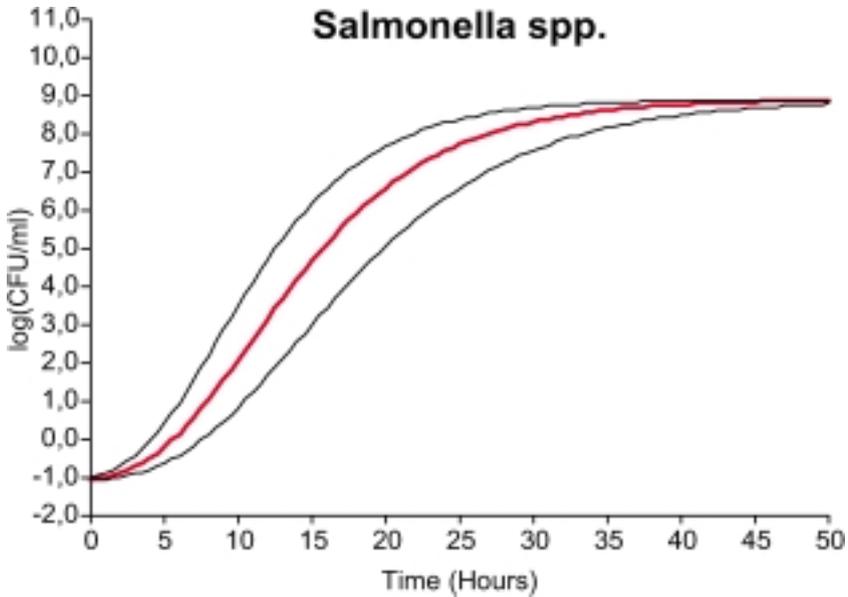
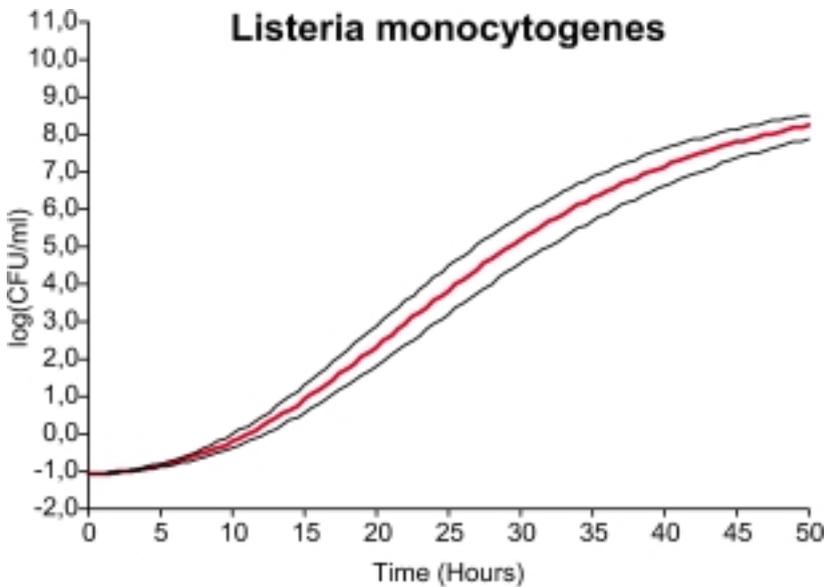


Figura n. 4 - Curva di sviluppo di *L. monocytogenes* nella ricotta vaccina in condizioni di abuso termico (25° C).



Questo prodotto, non presentando una flora microbica caratteristica, può facilmente essere colonizzato da parte di patogeni (Lodi R., et al. 1999), eventualmente veicolati anche dagli operatori, come, peraltro, rilevato anche da noi. Ne consegue la necessità di uno scrupoloso mantenimento della catena del freddo, sia a livello di commercializzazione sia in ambito domestico, dal momento che la ricotta può essere sia consumata tal quale, sia utilizzata per preparazioni gastronomiche che non richiedono la cottura.

**Parole chiave:** ricotta, microbiologia predittiva, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica*, *Listeria monocytogenes*.

**Key words:** ricotta, predictive microbiology, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica*, *Listeria monocytogenes*.

**Mots clés:** ricotta, microbiologie prédictive, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica*, *Listeria monocytogenes*.

**RIASSUNTO** - Sono stati esaminati 50 campioni di ricotta vaccina tradizionale, provenienti da 10 caseifici e da 8 banchi vendita, nel Comprensorio del Parmigiano-Reggiano.

Le indagini, tese a definirne il profilo microbiologico, sono state orientate all'individuazione dei microrganismi indici di contaminazione fecale e di batteri patogeni: *Salmonella enterica*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* O157:H7, *Bacillus cereus*, *Yersinia enterocolitica* e *Clostridium perfringens*.

Relativamente ai microrganismi indici di contaminazione fecale si è evidenziata solamente la presenza di coliformi termotolleranti in quattro campioni provenienti dai banchi vendita. Per quanto riguarda i microrganismi patogeni si è rilevata la presenza di *S. enterica* sierotipo Bredney in un campione, di *L. monocytogenes* sierotipi O4 e O1 in due campioni e di *S. aureus* coagulasi positivo ( $4 \times 10^4$  ufc/g) in un campione. Per i patogeni di cui sopra, inoltre, è stata ipotizzata l'evoluzione in condizioni di abuso termico (25°C) con un modello di microbiologia predittiva.

**SUMMARY** - A total of 50 Ricotta cheese samples were collected from ten dairy farms and eight markets in the Parmesan cheese area. The specimens were analyzed for faecal contamination indicator bacteria and for pathogenic micro-organisms, such as *Salmonella enterica*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* O157:H7, *Bacillus cereus*, *Yersinia enterocolitica* and *Clostridium perfringens*.

Four samples only, collected from different markets, were contaminated by thermotolerant coliforms. Among the pathogenic bacteria, *S. enterica* serotype Bredney was detected in one Ricotta cheese sample, *L. monocytogenes* serotype O1 and O4 in two samples respectively, and coagulase positive *S. aureus* ( $4 \times 10^4$  CFU/g) in one sample. Furthermore, the evolution of the above mentioned pathogens at high temperature condition (25° C) was studied accordingly to a predictive microbiology model.

**RÉSUMÉ** - On a examiné 50 échantillons de "Ricotta traditionnelle" de vache, en provenance de 10 fromageries et de 8 étalages situés dans la région du Parmigiano-Reggiano.

Les recherches effectuées ont envisagé le profil microbiologique avec les bac-

téries indicateurs de contamination fécale et des bactéries pathogènes: *Salmonella enterica*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* O157:H7, *Bacillus cereus*, *Yersinia enterocolitica* et *Clostridium perfringens*.

Relativamente aux bactéries indicateur de contamination fécale on a relevé seulement la présence des coliformes thermo-tolérants dans quatre échantillons, provenant des étalages. Pour ce qui concerne les bactéries pathogènes, on a détecté: la présence de *S. enterica* sérotype Bredney dans un échantillon, de *L. monocytogenes* sérotype O4, O1, dans deux échantillons, de *S. aureus* coagulase positif ( $4 \times 10^4$  ufc/g) relevé dans un échantillon. À propos des pathogènes décrites ci-dessus, en outre, on a supposé l'évolution à condition d'abuse thermique (25°) C avec un modèle de microbiologie prédictive.

### Bibliografia

- Angeli F. (2000). Osservatorio Latte. Ed. Annuario del latte, 265-272.
- Aureli P., Fiorucci G.C., Caroli D., et al. (2000). An outbreak of febrile gastroenteritis associated with corn contaminated by *Listeria monocytogenes*. N. England J. Med. **342**, 1236-41.
- Carminati D., Bellini E., Perrone A., Neviani E., Mucchetti G. (2002), Ricotta vaccina tradizionale: indagine sulla qualità microbiologica e sulla conservabilità. In corso di stampa su Industrie Alimentari).
- Cosseddu A.M., De Santis E.L.P., Mazzette, Fresi A., Lai G. (1997). Ricotta bovina fresca confezionata: caratteristiche microbiologiche di interesse igienico-sanitario. Il latte, **22**, (7), 76-81.
- Del Bono G., Stefani A. (1997). Latte e derivati. Ed. ETS, Pisa.
- Giaccone V., Liuzzo G., Poeta A. (1999). Caratteristiche microbiologiche della ricotta vaccina fresca tradizionale. Atti Convegno "L'industria lattiero-casearia fra microbofobia e nuova cultura microbiologica", 41-53. Correggio (RE), 24 aprile 1999.
- ISO 10560 (1993) - Milk and milk products. Detection of *Listeria monocytogenes*.
- ISO 6785 (1985) - Milk and milk products. Detection of *Salmonella*.
- Lodi R., Baio A., Capulli S., Cecchi L. (1999), Qualità di ricotte artigianali e loro conservabilità, Ind. Latte, **XXXV**, 33-58.
- Naso I. (1990). Formaggi del medioevo Ed. Il Segnalibro, Torino.
- Ottogalli G. (1991). Microbiologia lattiero-casearia. Ed. CLESAV-Città studi, Milano, 250-251.
- Padhye N.V., Doyle M.P. (1991). Rapid procedure for detecting enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in food. Appl. Environ. Microbiol., **57**, 2693-2698.
- Salvadori del Prato O. (1992). La Ricotta, Il Latte, **17**, (8), 708-719.
- Tantillo G., Aprile A., (2000). Indagine sulla presenza di caseine nella composizione proteica di ricotte commercializzate, Industrie Alimentari, **XXXIX**, 579-585.
- UNI (1997). UNI: fissazione dello standard "ricotta". Il mondo del latte, **LI**, 1, 55.
- Zheng X.B., Xie C. (1996). Note: Isolation, characterization and epidemiology of *Yersinia enterocolitica* from humans and animals. J. Appl. Bacteriol., **81**, 681-684.

## IMPIEGO DEL METODO “VIDAS-LMO” PER LA RICERCA DI *LISTERIA MONOCYTOGENES* IN PRODOTTI CARNEI E LATTIERO-CASEARI

Bonardi S., Lucidi L., Paris A., Brindani F.<sup>1</sup>

### *Introduzione*

Nel presente lavoro si procede al confronto tra metodiche tradizionali atte all'isolamento di *Listeria monocytogenes*, caratterizzate da tempi piuttosto lunghi per lo svolgimento delle analisi, e la procedura automatizzata “VIDAS-LMO” (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France) basata sul metodo ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay) e richiedente tempi più brevi per rilevare o meno la presenza del patogeno.

Come è noto, l'isolamento di *L. monocytogenes* da diversi prodotti alimentari è un evento abbastanza frequente. Un'indagine svolta da Messi *et al.* (2000) ha messo in evidenza come l'8% di 494 campioni di prodotti lattiero-caseari, il 15% di 509 campioni di carni crude e di prodotti carnei ed il 7,6% di 183 campioni di pesci e prodotti ittici risultavano contaminati dal microrganismo. Diverse ricerche hanno dimostrato la presenza di *L. monocytogenes* in formaggi a pasta molle (Loncarevic *et al.*, 1995; Pinto e Reali, 1996), salsicce fresche (Messi *et al.*, 2000), salami stagionati (Pezzotti *et al.*, 2000) e prodotti ittici (Farber, 2000; Rorvik *et al.*, 2000). Non stupisce, pertanto, la frequente segnalazione di focolai di listeriosi umana di origine alimentare, descritti anche di recente in diversi paesi (Aureli *et al.*, 2000; Lyytikäinen *et al.*, 2000; Tham *et al.*, 2000).

Per questo motivo si è costantemente alla ricerca di un metodo analitico caratterizzato da sensibilità e specificità elevate, ma anche capace di rilevare la presenza di *L. monocytogenes* in tempi relativamente brevi. Obiettivo di questa indagine è pertanto il confronto tra metodi analitici convenzionali, quali il metodo ISO 10560 per il latte ed i prodotti lattiero-caseari e la procedura basata sul doppio arricchimento nei brodi LEB UVM I e LEB UVM II per le matrici carnee, con l'analisi immuno-enzimatica eseguita con il kit VIDAS-LMO per l'isolamento di *L. monocytogenes* da prodotti alimentari naturalmente contaminati.

### *Materiali e metodi*

Nel periodo compreso tra Agosto 2000 e Maggio 2001 si sono analizzati complessivamente 125 campioni, così suddivisi: 30 campioni di mozzarella, acquistati presso vari punti vendita, 50 campioni di ricotta vaccina fresca tradizionale, di cui 36 reperiti direttamente presso i caseifici di produzione e 14 da diversi banchi vendita,

---

<sup>1</sup> Dipartimento di Salute Animale – Sezione di Ispezione degli Alimenti di origine animale – Facoltà di Medicina Veterinaria - Università di Parma.

e 45 salsicce di carne suina provenienti da alcuni laboratori artigianali distribuiti in provincia di Parma. Tutti i campioni sono stati sottoposti ad analisi per la ricerca di *L. monocytogenes* secondo metodiche tradizionali e secondo la procedura VIDAS-LMO.

I prodotti lattiero-caseari sono stati analizzati secondo il metodo ISO 10560: 25 grammi di campione sono stati addizionati a 225 ml di brodo Tryptone Soya con estratto di lievito (TSYEB) supplementato con acriflavina idrocloridrato (0,01 g/l), acido nalidixico (0,04 g/l) e cicloeximide (0,05 g/l). Le brodoculture sono state incubate a 30° C per 48 ± 2 ore e quindi piastrate su Oxford Agar (Biokar Diagnostics). Dopo 48 ore di incubazione a 37°C si sono trapiantate da un minimo di 5 ad un massimo di 20 colonie sospette per campione su piastre di Tryptone Soya Agar con estratto di lievito (TSYEA, Oxoid). Le piastre sono state mantenute in termostato a 37° C per 24 ore al fine di ottenere colonie isolate. Su queste ultime sono state eseguite la colorazione di Gram, la prova della catalasi, la prova di mobilità ed il CAMP-test come previsto dalla norma ISO 10560. L'identificazione di specie è stata, infine, ottenuta mediante le prove biochimiche del sistema miniaturizzato API-Listeria (bioMérieux).

Per le salsicce si è impiegato il metodo d'analisi basato sul doppio arricchimento in brodo LEB (Listeria Enrichment Broth) secondo la formulazione UVM I ed UVM II. Un'aliquota di 25 grammi di campione è stata omogenata in 225 ml di brodo di primo arricchimento (LEB UVM I, Oxoid) e sottoposta ad un'incubazione a 30° C per 24 ore. Successivamente 0,1 ml della brodocultura sono stati trasferiti in 10 ml di brodo di secondo arricchimento (LEB UVM II, Oxoid), incubato a 30° C per 24 ore. La piastratura veniva quindi eseguita su Oxford Agar con incubazione a 37° C per 48 ore. Dalle colonie caratteristiche, seminate su TSYEA, venivano effettuati i test elencati in precedenza e la conferma biochimica era eseguita mediante il kit API-Listeria.

Il metodo VIDAS-LMO permette di eseguire un'analisi immuno-enzimatica a fluorescenza (ELFA: Enzyme Linked Fluorescent Assay) con l'ausilio dello strumento VIDAS (bioMérieux). Il kit VIDAS-LMO è composto da un cono SPR (Specific Phase Receptacle) con adesivi agli anticorpi anti-*L. monocytogenes* e da una barretta costituita da una serie di pozzetti in cui sono contenuti la soluzione di lavaggio, gli anticorpi anti- *L. monocytogenes* coniugati alla fosfatasi alcalina ed il substrato fluorescente 4-metil-umbelliferil fosfato. La fluorescenza viene misurata a 450 nm dallo scanner ottico nello strumento VIDAS e viene espressa dal valore RFV (Relative Fluorescent Value - valore di fluorescenza relativa). Il risultato è stampato su carta direttamente dallo strumento e viene espresso come "positivo" o "negativo" sulla base del confronto tra il valore RFV del campione ed il valore di fluorescenza di uno standard.

Seguendo le istruzioni della ditta produttrice, 25 grammi dei campioni di mozzarella e di ricotta sono stati addizionati a 225 ml di Half-Fraser Broth (bioMérieux), mentre 25 grammi dei campioni di salsiccia sono stati omogenati con 225 ml di Fraser Broth (bioMérieux). Dopo incubazione a 30° C per 24-26 ore, si sono trasferiti 0,1 ml di brodo Half-Fraser (procedura specifica per i prodotti lattiero caseari) oppure 1 ml di brodo Fraser (procedura consigliata per altri prodotti alimentari) in 10 ml di Fraser Broth. Dal brodo di secondo arricchimento, trascorse 24-26 ore di incu-

bazione a 30° C, si è prelevata un'aliquota di 500 µl che è stata depositata nello specifico pozzetto SPR del kit VIDAS-LMO, ed utilizzata per l'analisi immuno-enzimatica dal sistema VIDAS. Il risultato, espresso come "positivo" o "negativo" in riferimento alla presenza/assenza di *L. monocytogenes* nel campione in esame, si rende disponibile nell'arco di soli 70 minuti.

E' in ogni caso consigliabile conservare a 2-8° C i brodi di secondo arricchimento, impiegati nella metodica VIDAS, in modo da poter confermare con l'isolamento su piastra ogni risultato positivo (Vaz-Vehlo *et al.*, 2000).

### *Risultati e conclusioni*

Dai campioni di mozzarella non è mai stata isolata *L. monocytogenes*, mentre 2 (4,0%) campioni di ricotta vaccina sono risultati contaminati da *L. monocytogenes* ed 1 (2,0%) da *L. welshimeri*.

La metodica VIDAS-LMO ha identificato come "positivi" i campioni contaminati da *L. monocytogenes* in soli due giorni, mentre quello contaminato da *L. welshimeri* veniva considerato negativo.

Seguendo la metodica ISO 10560, le colonie sospette cresciute sulle piastre di terreno selettivo hanno dovuto sottostare alle diverse prove biochimiche di conferma. L'analisi ha quindi richiesto quattro giorni di tempo per giungere alla lettura delle piastre ed ulteriori tre giorni per le prove biochimiche e l'identificazione di specie.

Tenendo presente che ogni risultato positivo, fornito dalla procedura VIDAS, andrebbe confermato con l'isolamento su piastra (Vaz-Vehlo *et al.*, 2000), si è comunque di fronte ad un notevole risparmio di tempo (cinque giorni) quando la contaminazione, anziché da *L. monocytogenes*, è data da un'altra specie di *Listeria*. Questo risultato si è ottenuto grazie alla sensibilità (100%) e specificità (100%) che il metodo VIDAS-LMO ha dimostrato nei confronti del metodo ISO per l'isolamento di *L. monocytogenes* dai prodotti lattiero-caseari.

Le analisi eseguite sulle salsicce di carne suina hanno messo in evidenza un'incidenza molto elevata (57,8%) di campioni contaminati da *L. monocytogenes*. Il patogeno è stato, infatti, isolato da 26 campioni su 45; 25 di questi sono stati identificati con l'ausilio della metodica VIDAS-LMO, mentre il metodo analitico basato sul doppio arricchimento nei brodi LEB UVM I e UVM II ha individuato solo 14 campioni contaminati da *L. monocytogenes*.

La metodica VIDAS ha dunque presentato una sensibilità del 96,1%, mentre la procedura tradizionale ha mostrato una sensibilità decisamente più bassa (53,8%). La specificità del metodo VIDAS-LMO, valutabile in base ai dati della presente ricerca, è pari al 63,2%, dato che da sette campioni considerati "positivi" si è in realtà isolata *L. innocua*. Nonostante la validazione AFNOR (Nr BIO-12/3-03/96) non avesse rilevato reazioni crociate del metodo VIDAS-LMO con altre specie appartenenti al genere *Listeria*, nel nostro studio la specificità del sistema è stata intaccata dai sette risultati falsamente positivi.

Rimane comunque da sottolineare l'elevata sensibilità del metodo VIDAS-LMO che, unitamente alla conferma in piastra dei risultati "positivi", permette di ottenere risultati molto più soddisfacenti rispetto a quelli raggiungibili con le metodiche analitiche tradizionali.

L'Ordinanza Ministeriale 7 Dicembre 1993 stabilisce i limiti di tolleranza di *L. monocytogenes* in alcuni prodotti alimentari, ad esclusione del latte e dei prodotti da esso derivati, e pertanto abbiamo testato con la metodica MPN, prevista dall'ordinanza stessa, i campioni di salsiccia che risultavano positivi all'analisi qualitativa. Allo scopo, un'aliquota del campione era stata appositamente mantenuta in congelatore e scongelata al momento del conteggio MPN. I risultati che abbiamo ottenuto mettono in evidenza la capacità del sistema VIDAS-LMO di rilevare la presenza di *L. monocytogenes* anche a livelli di contaminazione molto bassi: su 9 campioni di salsiccia che presentavano valori del patogeno inferiori a 3 *L. monocytogenes/g*, 8 (88,9%) sono stati considerati "positivi" dal sistema di immuno-rivelazione, mentre con il sistema analitico tradizionale ne sono stati individuati solo 4 (44,4%) (tabella n° 1). Il sistema analitico convenzionale acquista, invece, sensibilità con l'aumentare del livello di contaminazione del campione.

L'unico campione che il metodo VIDAS-LMO non ha evidenziato come "positivo" era contaminato da un ceppo di *L. monocytogenes* privo di attività emolitica. Il ritrovamento di ceppi non emolitici non è un'evenienza rara: infatti ben 3 campioni dei 26 contaminati dal microrganismo erano negativi al CAMP-test. Il sistema VIDAS-LMO ha rilevato due campioni contaminati da ceppi di *L. monocytogenes* privi di attività emolitica, in quanto, come ribadito da Allerberger *et al.* (1997), l'analisi immuno-enzimatica è specifica sia per i ceppi emolitici che non emolitici di *L. monocytogenes*. Il terzo ceppo non emolitico di *L. monocytogenes* è stato identificato con la metodica tradizionale, ma solo grazie al fatto che ogni colonia, anche se negativa al CAMP-test, è stata successivamente sottoposta alle prove biochimiche del sistema API-Listeria per l'identificazione di specie. Nelle analisi di routine i ceppi non emolitici, isolati con metodi microbiologici tradizionali, non vengono presi in considerazione come ceppi sospetti se la ricerca è mirata all'isolamento di *L. monocytogenes*, mentre sia la PCR che il Western-blotting sono in grado di identificarli con esattezza e riconoscere la loro appartenenza alla specie "*monocytogenes*".

In conclusione, possiamo ritenere che la metodica VIDAS-LMO per la ricerca di *L. monocytogenes* in prodotti alimentari di diversa natura, quali i prodotti lattiero-caseari ed i prodotti carnei oggetto della presente ricerca, si è dimostrata estrema-

Tabella n.1: Valutazione del sistema automatizzato VIDAS-LMO per la ricerca di *L. monocytogenes* in campioni di salsiccia suina.

Livello di contaminazione con metodica MPN ( <i>L. monocytogenes/g</i> )	Campioni positivi con il sistema VIDAS-LMO	Campioni positivi con il metodo convenzionale	Campioni risultati complessivamente positivi
< 3	8 (88,9%)	4 (44,4%)	9
4-21	11 (100%)	7 (63,6%)	11
28-90	4 (100%)	3 (75,0%)	4
n.d.	2 (100%)	0 (0%)	2
	25 (96,1%)	14 (53,8%)	26

mente sensibile e specifica rispetto a metodi di isolamento tradizionali. In particolare, i risultati appaiono estremamente incoraggianti per l'analisi dei prodotti lattiero-caseari, tenendo presente che nella maggior parte di essi (97,5%) il risultato negativo era disponibile già dopo soli due giorni rispetto ai quattro richiesti dalla metodica ISO, se non addirittura ai sette giorni necessari per identificare una specie non patogena di *Listeria*.

**Parole chiave:** *L. monocytogenes*, VIDAS-LMO, salsiccia suina, mozzarella, ricotta

**Key words:** *L. monocytogenes*, VIDAS-LMO, pork sausage, Mozzarella cheese, Ricotta cheese

**Mots clés:** *L. monocytogenes*, VIDAS-LMO, saucisse de porc, Mozzarella, Ricotta

**RIASSUNTO** - Metodiche analitiche convenzionali per la ricerca di *L. monocytogenes* ed il metodo immuno-enzimatico VIDAS-LMO sono stati confrontati su diverse matrici alimentari per valutarne sensibilità, specificità e tempi di risposta. In totale sono stati analizzati 125 campioni, di cui 45 salsicce di carne suina, 30 mozzarelle e 50 ricotte vaccine tradizionali. Per i campioni di salsiccia è stato effettuato un arricchimento in *Listeria* Enrichment Broth UVM I e UVM II, seguito da piastratura su Oxford Agar, mentre i prodotti lattiero-caseari sono stati analizzati secondo la norma ISO 10560. Ogni prodotto è stato saggiato con la metodica VIDAS-LMO come prescritto dal produttore.

La sensibilità della metodica VIDAS-LMO si è rivelata del 96,1% per le salsicce suine e del 100%, pari alla norma ISO 10560, per i derivati del latte. Il metodo convenzionale impiegato per i prodotti carnei ha presentato una sensibilità del 53,8%. La specificità della procedura VIDAS-LMO è risultata del 100% per i prodotti lattiero-caseari e del 63,2% per le salsicce di carne suina. I tempi di risposta sono apparsi particolarmente rapidi con il metodo VIDAS in caso di risultato negativo: due giorni rispetto ai quattro richiesti dalle metodiche analitiche convenzionali.

**SUMMARY** – Conventional analytical methods for the detection of *Listeria monocytogenes* in food products and the VIDAS-LMO method were evaluated for sensitivity, specificity and time saving. A total of 125 samples (45 pork sausages, 30 Mozzarella cheese and 50 Ricotta cheese samples) were analysed. Pork sausages were enriched in *Listeria* Enrichment Broth UVM I and UVM II, and Oxford Agar was employed as selective medium. Dairy-products were analysed accordingly to ISO 10560 method. All samples were tested with the VIDAS-LMO procedure following the manufacturer's instructions.

Sensitivity of the VIDAS-LMO method was 96.1% for pork sausages and 100% for dairy products. The ISO 10560 method for dairy products had 100% sensitivity, but the conventional method employed for pork sausages had a lower sensitivity (53.8%). Specificity of the VIDAS procedure was 100% for dairy products and 63.2% for pork sausages. The VIDAS-LMO method was time saving, requiring only two days instead of four in case of negative result.

**RÉSUMÉ** - On a comparé les méthodes d'analyse conventionnelles et le méthode immuno-enzymatique VIDAS-LMO, pour la recherche de *L.monocytogenes* dans des

matrices alimentaires pour en évaluer la sensibilité, spécificité et temps de réponse. On a analysé 125 échantillons, dont 45 saucisses de viande de porc, 30 fromages Mozzarella et 50 fromages « Ricotta » de vache. On ce qui concerne les échantillons de saucissons on a réalisée un enrichissement avec Listeria Enrichement Broth UVM I et UVM II, suivi par un distribution sur Oxford Agar, tandis que les produits laitiers ont été analysée parmi le méthode ISO 10560. Les produits ont testés avec le méthode VIDAS-LMO comme prescrit par le producteur .

On a relevé un niveau de sensibilité du méthode VIDAS-LMO égal a 96,1% pour le saucisses de porc et du 100%, comme le méthode ISO 10560, pour les produits qui laitiers Le méthode conventionnel utilisé pour le produits de chair a envisagé une sensibilité du 53,8%. La spécificité du méthode VIDAS-LMO été du 100% pour les produits laitieres et du 63,2% pour les saucisses de viande de porc. Les temps d'attente pour la réponse du résultat ont été particulièrement rapides avec le méthode VIDAS- LMO, pour le résultat négatif: deux jours par rapport aux quatre nécessaire avec le méthode conventionnel.

#### *Bibliografia*

- Allerberger F., Dierich M., Petranyi G., Lalic M., Bubert A. (1997). Nonhemolytic strains of *Listeria monocytogenes* detected in milk products using VIDAS immunoassay kit. Zbl. Hyg., 200, 189-195.
- Aureli P., Fiorucci G.C., Caroli D., Marchiaro G., Novara O., Leone L., Salmaso S. (2000). An outbreak of febrile gastroenteritis associated with corn contaminated by *Listeria monocytogenes*. New England J. Med., 27, 1236-1241.
- Farber J.M. (2000). Present situation in Canada regarding *Listeria monocytogenes* and ready-to-eat-seafood products. Int. J. Food Microbiol., 62, 247-251.
- Loncarevic S., Danielsson-Tham M.L., Tham W. (1995). Occurrence of *Listeria monocytogenes* in soft and semi-soft cheeses in retail outlets in Sweden. Int. J. Food Microbiol., 26, 245-250.
- Lyytikäinen O., Autio T., Majjala R., Ruutu P., Honkanen-Buzalski T., Miettinen M., Hatakka M., Mikkola J., Anttila V.J., Johansson T., Rantala L., Aalto T., Korkeala H., Siitonen A. (2000). An outbreak of *Listeria monocytogenes* serotype 3a infections from butter in Finland. J. Infect. Dis., 181, 1838-1841.
- Messi P., Casolari C., Fabio A., Fabio G., Gibertoni C., Menzioni G., Quaglio P. (2000). Presenza di *Listeria* in matrici alimentari. Industrie Alimentari, 39, 151-157.
- Pezzotti G., Bolognani G., Farina G., Mioni R. (2000). Contaminazione da *Listeria monocytogenes* in prodotti alimentari. Atti X Congresso A.I.V.I., Marsala, 11-14 Ottobre, 109-113.
- Pinto B., Reali D. (1996). Prevalence of *Listeria monocytogenes* and other listerias in Italian-made soft cheeses. Zentralbl. Hyg. Umweltmed., 199, 60-68.
- Rorvik L.M., Aase B., Alvestad T., Caugant D.A. (2000). Molecular epidemiological survey of *Listeria monocytogenes* in seafoods and seafood-processing plants. Appl. Environ. Microbiol., 66, 4779-4784.

- Tham W., Ericsson H., Loncarevic S., Unnerstadt H., Danielsson-Tham M.L. (2000). Lessons from an outbreak of listeriosis related to vacuum-packed gravad and cold-smoked fish. *Int. J. Food Microbiol.*, 62, 173-175.
- Vaz-Velho M., Duarte G., Gibbs P. (2000). Evaluation of mini-VIDAS rapid test for detection of *Listeria monocytogenes* from production lines of fresh to cold-smoked fish. *J. Microbiol. Methods*, 40, 147-151.

Si ringrazia il Dott. Ennio Del Puppo per la cortese collaborazione.

*Ricerca finanziata in parte con contributo ex-M.U.R.S.T 40% - 1999*

## TULAREMIA: UNA ZONOSI DA NON DIMENTICARE

Ezio Bottarelli\*

Fin dal XIV secolo venne riconosciuta, nell'Europa settentrionale, l'esistenza di una malattia dell'uomo che si manifestava con particolare frequenza nei periodi in cui, per ragioni climatiche o per altri fattori ambientali contingenti, la consistenza numerica della popolazione di roditori era straordinariamente elevata. In quelle regioni il roditore più comune era il lemming (*Lemmus lemmus*), e perciò la forma morbosa venne detta "febbre da lemming". Fu soltanto verso la fine del XIX secolo che la patologia venne accettata come entità clinica a sé stante; non molti anni dopo, nel 1911, si osservò negli U.S.A. una affezione simil-pestosa nello scoiattolo californiano (*Citellus beecheyi*) ed in quell'occasione venne isolato un agente batterico apparentemente nuovo (McCoy, 1911; McCoy e Chapin, 1912). L'agente venne denominato "*Bacterium tularense*", a memoria della contea di Tulare, in California, ove il focolaio era stato osservato.

I primi casi accertati di malattia nell'uomo vennero diagnosticati negli U.S.A. durante gli anni '20 ed all'inizio degli anni '30 in Europa.

### *Gli agenti*

A tutt'oggi sono riconosciuti 7 agenti inquadrati nel genere *Francisella*, denominazione adottata in onore di Edward Francis, un batteriologo statunitense che svolse approfonditi studi sul batterio e sulla patogenesi della malattia.

Nel passato gli agenti della tularemia sono stati inclusi nei gruppi "*Pasteurella*" o "*Brucella*". La differenziazione di *Francisella* spp. da *Brucella* e *Pasteurella* è basata su una serie di caratteri, fra i quali spiccano il diverso contenuto in acidi grassi del microrganismo (Jantzen *et al.*, 1979), l'elevato contenuto lipidico della parete cellulare (Hood, 1977) e le diverse proporzioni del contenuto in G+C nel DNA batterico. Infatti, in *Francisella* gli aminoacidi guanina e citosina concorrono a formare soltanto il 33-36% del DNA, mentre in *Pasteurella* spp tale percentuale raggiunge il 40-45%, e valori ancora più elevati si riscontrano in *Brucella* spp (55-58%) (Pearson, 1998).

Dal punto di vista morfologico, i diversi membri della specie *Francisella* sono indistinguibili. *In vivo* il batterio si presenta come un piccolo elemento coccobacillare (0.3-0.7 mm), circondato da una capsula; si possono osservare anche forme ovoidali, bacillari, a fagiolo, filamentose. Gram negativo, immobile ed asporigeno, risul-

---

\* Dipartimento di Salute Animale, Università degli Studi di Parma, Via del Taglio, 8, 43100 Parma.  
E-mail: ezio.bottarelli@unipr.it

ta di isolamento piuttosto difficile. Infatti, oltre a possedere particolari esigenze di crescita (necessita di terreni addizionati di cisteina), richiede preferibilmente, per l'isolamento primario, il ricorso all'inoculazione di animali da laboratorio (topino o cavia) o di uova embrionate. Ciò è pressochè indispensabile qualora si voglia procedere all'isolamento dall'acqua (Pearson, 1988).

### Tassonomia corrente

La classificazione attuale (Anda *et al.*, 2001) dei membri del genere *Francisella* è riassunta nella Tabella 1.

Tabella 1. Tassonomia corrente del genere *Francisella*

Specie	Subspecie o biovar	Sinonimo	Primo isolamento
<i>tularensis</i>	tularensis o nearctica	tipo A	isolata nel 1941 da casi di malattia dell'uomo in U.S.A.
	holartctica biograppo I	tipo B eritromicino- sensibile	isolata nel 1896 in Norvegia; ceppo di referenza isolato a Mosca nel 1976
	holartctica biograppo II o palaeartctica	tipo B eritromicino- resistente	
	holartctica biograppo japonica		isolata nel 1926 in Giappone da un linfonodo umano
	mediaasiatica		isolata nel 1965 da un gerbillo in U.S.A.
	novicida	tipo C	isolata nel 1951 da acque superficiali in U.S.A.
<i>philomiragia</i>			isolata nel 1951 da un'ondata in U.S.A.

Nell'ambito della specie *tularensis* vengono incluse cinque sottospecie o biovar: *tularensis*, *holartctica* biograppo I, *holartctica* biograppo II, *mediaasiatica* e *novicida*.

L'identificazione di un biovar viene effettuata attraverso test biochimici (fermentazione del glicerolo, citrullina ureidasi ecc.) (Olsufiev *et al.*, 1959). Tutti i ceppi della specie *tularensis*, indipendentemente dal tipo di appartenenza, hanno la stessa composizione antigenica e non possono essere differenziati con metodi sierologici (Carlisle *et al.*, 1962). Recentemente è stata dimostrata la possibilità di differenziazione fra tipo A e tipo B attraverso metodi di ibridizzazione del DNA (Forsman *et al.*, 1990) o attraverso PCR (Puente Redondo *et al.*, 2000). Quest'ultima tecnica ha consentito anche di suddividere gli stiptidi di *F. tularensis* in 17 gruppi genetici (designati con lettere da A a Q) e di dimostrare che almeno 4 dei suddetti gruppi possono infettare sia l'uomo che la lepre (Puente Redondo *et al.*, 2000).

Nell'ambito della specie *tularensis*, i ceppi più importanti quali agenti di malat-

tia nell'uomo o negli animali, in quanto provvisti di elevata virulenza, sono quelli del biovar *tularensis*; essi sono presenti in America settentrionale (Penn, 1995), ma sono stati isolati di recente anche in Europa centrale (Gurycova, 1998). Il biovar palaeartica è meno virulento e viene isolato soprattutto in Eurasia, mentre in America la sua presenza è da ritenere occasionale. (Olsufjev *et al.*, 1959). Il biovar novicida (Hollis *et al.*, 1989) in passato era considerato una delle tre specie del Genere (Eigelsbach e McGann, 1984).

I tipi A e B causano rispettivamente, nell'uomo, malattia grave e lieve. Il tipo C è stato isolato dall'acqua e soltanto eccezionalmente provoca malattia nell'uomo (Hollis *et al.*, 1989).

La specie *philomiragia* è probabilmente provvista di basso potere patogeno, ma eccezionalmente può sostenere malattia nell'uomo (Clarridge *et al.*, 1996; Hollis *et al.*, 1989; Polack *et al.*, 1998; Wenger *et al.*, 1989).

### *Gli ospiti*

*Francisella tularensis* è un patogeno intracellulare che induce una malattia a decorso iperacuto fulminante negli ospiti altamente sensibili, oppure malattia cronica a carattere granulomatoso negli ospiti moderatamente sensibili, o immunità persistente in assenza di segni clinici negli ospiti resistenti (Pearson, 1998).

Nell'uomo, tipo e gravità della malattia dipendono principalmente da tre variabili: sottospecie batterica o biograppo in causa e virulenza del ceppo, via di infezione, dose infettante.

L'ampia variazione di sensibilità dell'uomo in rapporto al ceppo batterico è testimoniata, per esempio, dal fatto che l'infezione per via respiratoria con soli 10 microrganismi di un ceppo patogeno di *F. tularensis tularensis* ha esito mortale (Saslaw *et al.*, 1961), mentre nel caso di *F. tularensis holartica*, assunta per la stessa via, la DL<sub>50</sub>, pur restando bassa in termini di valore assoluto, raggiunge tuttavia valori superiori di oltre 2 ordini di grandezza (10<sup>3</sup>).

Per le diverse specie di animali, domestici o selvatici, la eterogeneità ora accennata è ulteriormente amplificata da un'altra importante variabile: la recettività di specie. Infatti, a titolo di esempio, si può ricordare come l'affezione simil-pestosa degli scoiattoli, sostenuta dalla sottospecie *tularensis*, abbia esito letale dopo inoculazione di soli 1-10 microrganismi. Lo stesso dicasi per il topino e la cavia inoculati per via sottocutanea (Tasselli *et al.*, 1988). Questa stessa specie sviluppa malattia grave anche dopo infezione attraverso una vasta gamma di modalità (orale, intranasale, congiuntivale, intraperitoneale).

In natura la malattia in forma clinica colpisce quasi esclusivamente lagomorfi e roditori; le altre specie vanno incontro, salvo rare eccezioni (Rohrbach, 1988) ad infezione asintomatica e sviluppano anticorpi specifici. Questa loro caratteristica li rende idonei ad essere utilizzati come "animali sentinella" per valutare la circolazione dell'agente nel territorio (Magnino *et al.*, 1990; Tasselli *et al.*, 1984).

L'infezione spontanea è stata dimostrata in almeno 111 specie di invertebrati (fra cui 14 specie di zecche, 6 di pulci, numerose specie di zanzare)(Gurycova *et al.*, 1995; Hillman e Morgan, 1937) ed in circa 150 mammiferi selvatici, rappresentati in maggioranza da roditori e lagomorfi (Hoff *et al.*, 1975; Magnino *et al.*, 1990), ma

comprendenti anche primati, insettivori, carnivori, ungulati, marsupiali, anfibi e pesci (Calle *et al.*, 1993; Emmons *et al.*, 1976; Hopla, 1974; Posthaaus *et al.*, 1998; Reilly, 1970). Nove specie di animali domestici possono essere coinvolte, compresi suini, bovini, ovini, gatto, cane (Baldwin *et al.*, 1991; Calhoun, 1956; Capellan e Fong, 1993; Gustafson e De Bowes, 1996; Magnino *et al.*, 1990; Rudesill, 1937; Woods *et al.*, 1998). Infine, l'infezione è stata riconosciuta in oltre 20 specie di uccelli (Mörner e Mattsson, 1983; Olsufjev *et al.*, 1959; Reilly, 1970).

### La trasmissione

Le modalità di trasmissione della tularemia sono state ben studiate nell'uomo e si rivelano di una complessità straordinaria (Fig. 1), in rapporto alla subspecie batterica, alla virulenza del ceppo in causa, all'ecosistema ed alla localizzazione geografica (Rohrbach, 1988).



Figura 1. Rappresentazione schematica delle modalità di trasmissione della tularemia fra animali e l'uomo.

La trasmissione tra gli animali o dagli animali all'uomo può avvenire con modalità differenti; non è nota, invece, l'esistenza di contagio inter-umano, mentre assume una certa rilevanza la possibilità di acquisire la malattia in seguito a manipolazione di materiale contaminato o di colture batteriche (Bell, 1980; Bradley *et al.*, 2001). In effetti, fin dagli anni '20 la tularemia è risultata una delle più importanti infezioni contratte in laboratorio (Magnino *et al.*, 1990).

Si ritiene che la maggioranza dei casi di malattia nell'uomo sia dovuta a contatto diretto con animali infetti (Pearson, 1988), tuttavia potrebbe assumere una importanza non trascurabile, per lo meno in alcune regioni geografiche, la trasmissione ad opera di tafani (*Chrysops* spp.), zecche (*Ixodes* spp., *Dermatocentor* spp., *Haemaphysalis* spp.) o zanzare (generi *Aedes*, *Culex*, *Anopheles*) (Olsufjev, 1974).

Nell'uomo l'infezione è presente in vaste zone dell'emisfero settentrionale, a latitudini comprese fra 30° e 70° (Fig. 2).



Figura 2. Rappresentazione schematica dei focolai di tularemia nell'uomo su scala mondiale.

### **America settentrionale**

La frequenza e l'andamento della tularemia in questo sub-Continente possono essere riassunti in tre distinti scenari. Il primo si riferisce alle regioni orientali degli U.S.A., ove la malattia predomina durante i mesi freddi, in correlazione alla stagione di caccia al coniglio (Dufrière e Vaissaire, 1998). Il secondo scenario viene osservato negli U.S.A. occidentali, dove l'incidenza è più elevata nel periodo estivo, in corrispondenza con la maggiore attività delle zecche e degli altri ectoparassiti ematofagi. Infine, il terzo si riferisce ai territori del Nord (Canada), nei quali i fattori di rischio sono da individuare nella contaminazione delle acque da parte di castori e ondatre (Perron, 1984) e nella caccia alle ondatre (Levesque *et al.*, 1995).

### **Europa ed Asia**

Fra i territori del Vecchio Mondo nei quali la tularemia sembra aver avuto, almeno in passato, un'ampia diffusione si annoverano quelli della ex-U.R.S.S., nei quali il ciclo vitale del batterio è influenzato da condizioni ambientali disparate (prateria, steppa, foreste, palude, tundra ecc.) ed interessa una varietà di mammiferi, con particolare riferimento a lagomorfi e roditori (lepri, ondatre, topi, gerbilli ecc.). I principali vettori sono individuabili in zecche del genere *Dermatocentor*, *Ixodes*, *Rhipicephalus*. In una siffatta varietà di condizioni, l'infezione dell'uomo può avvenire con modalità molteplici ma sostanzialmente riconducibili a 4 distinti *pattern* (Pearson, 1988):

1. infezione per via trans-cutanea (Quan *et al.*, 1956), trans-mucosale o per contatto, che interessa soprattutto i cacciatori e gli addetti agli impianti di macellazione e lavorazione di lepri, pecore ecc.;

2. trasmissione da parte di artropodi, evenienza più comune nelle persone che conducono vita all'aria aperta o nelle popolazioni residenti in regioni paludose o boschive;
3. trasmissione per via orale, principalmente attraverso acqua (o più raramente alimenti) contaminata da feci di roditori;
4. trasmissione per via aerea, attraverso inalazione di polveri provenienti da foraggi, paglia, mangimi o cereali contaminati da feci di roditori.

Nella penisola scandinava, numerosi casi sono stati attribuiti al contatto con lepri, lemming e altri piccoli roditori, mentre nell'Europa centrale e sud-orientale il comune topo campagnolo rappresenta l'animale più frequentemente implicato nella genesi di focolai di malattia dell'uomo (Haug e Pearson, 1972).

Nei Paesi dell'Europa meridionale (Francia, Spagna, Italia) la tularemia dell'uomo è stata sovente associata a contatto con lepri. In questi casi, il contagio è avvenuto sia per via transcutanea che, saltuariamente, per via alimentare attraverso ingestione di carni poco cotte. Secondo Mollaret e Bourdin (1972) il 90% dei casi di tularemia osservati in Francia era da attribuire a contatto con lepri.

Non mancano segnalazioni di vie di trasmissione non convenzionali, come recentemente evidenziato in Spagna (Anda *et al.*, 2001) ove sono stati descritti nell'uomo casi di malattia in forma ulcero-ghiandola associata alla pesca di gamberi d'acqua dolce (*Procambarus clarkii*).

In Italia le prime segnalazioni di infezioni degli animali risalgono agli anni '30 (Bardelli e Ravaglia, 1931). La malattia nell'uomo venne evidenziata nel 1966/67 in seguito a contatto con lepri infette (Bianchi 1966; Rinaldi e Cervio 1967; Rinaldi *et al.*, 1964). Altri casi vennero segnalati nel periodo attorno agli anni '80, sempre derivanti dal contatto con lepri (Senaldi 1987), ma anche al morso di una faina od al graffio di un coniglio. Dal 1982 la malattia ha assunto in Toscana un andamento a carattere endemico con epidemie saltuarie (Ercolini *et al.*, 1991; Senaldi *et al.*, 1987; Tasselli *et al.*, 1988), conseguenti con ogni probabilità a contaminazione degli impianti di approvvigionamento idrico (Greco *et al.*, 1987; Mignani *et al.*, 1988, 1991; Palarchi *et al.*, 1989).

#### *Persistenza in natura degli agenti*

In primo luogo, è da ricordare la vastità degli ecosistemi in cui possono essere presenti gli agenti del genere *Francisella*. Oltre che da numerosi animali sia a sangue caldo che a sangue freddo, l'agente è stato isolato dall'acqua, dal terreno e da vegetali (Hopla, 1974).

E' già stato accennato a come i lagomorfi ed i roditori assumano un ruolo epidemiologico rilevante quali fonti di infezione per l'uomo. Tuttavia i lagomorfi, se da un lato possono assumere un ruolo di amplificazione dell'infezione, dall'altro appaiono assai poco rilevanti come serbatoio di infezione. In essi, infatti, la malattia ha quasi costantemente esito letale, come dimostrato sia sul piano sperimentale che, indirettamente, dal fatto che nei periodi inter-epidemici non si riscontrano animali portatori o provvisti di anticorpi (Dufrêne e Vaissaire, 1998).

E' comunque da ricordare che il predetto andamento acuto-grave della malattia nelle popolazioni di lagomorfi ammette alcune eccezioni. Infatti, secondo alcuni

Autori, in America settentrionale la lepre “scarpa di neve” (*Lepus americanus*) va incontro a malattia non letale e potrebbe quindi rappresentare un serbatoio (Akerman e Embil, 1982). Lo stesso dicasi per le lepri europee in alcuni territori dell’Europa centrale (Romania), le quali risulterebbero poco recettive e potrebbero pertanto rappresentare un serbatoio (Pencea *et al.*, 1974).

I meccanismi essenziali di persistenza di *Francisella* in natura vanno probabilmente individuati nei vettori, ed in particolare nelle zecche (Mörner, 1992), dalle quali l’agente può essere isolato anche a distanza di mesi dopo l’esaurimento di una epidemia (Pencea *et al.*, 1974; Mollaret *et al.*, 1974) e che quindi assumono la funzione di serbatoio. Inoltre, nelle zecche è stata descritta la trasmissione verticale sia per via trans-stadiale che trans-ovarica (Hubálek e Halouzka, 1997).

Per quanto riguarda i roditori, essi sono meno sensibili alla malattia rispetto ai lagomorfi. E’ stato dimostrato che il topo campagnolo (*Apodemus sylvaticus*), in alcuni territori, rappresenta l’animale-serbatoio più importante (Olsufjev, 1974), e che il suo ruolo epidemiologico è accentuato dal fatto che in esemplari della suddetta specie, dopo infezione per via orale, si ha una localizzazione renale cronica, con escrezione attraverso le urine (Bell e Scott, 1975). Ciò rappresenta indubbiamente un potenziale veicolo di contaminazione delle acque superficiali, nonché un non trascurabile fattore di rischio per l’uomo.

Va inoltre ricordato il ruolo di altri animali (Dufrène e Vaissaire, 1998) che, seppure occasionalmente, sono risultati associati a casi di infezione umana: gatto, coniglio, scoiattolo, procione, cervo (Emmons *et al.*, 1976), volpe, lince, marmotta, tasso. E’ stata descritta anche la disseminazione ambientale di *Francisella* da parte di uccelli (corvo, cornacchia, poiana, gufo) (Rehbinder e Karlsson, 1979; Mörner e Mattsson, 1983).

Un fattore autolimitante della diffusione dell’infezione è rappresentato dalla stabilità relativamente bassa di *Francisella* spp. nell’ambiente. Essa infatti sopravvive soltanto a temperature piuttosto basse ed, anche in questo caso, per un tempo limitato (Tasselli *et al.*, 1988). A temperature superiori a 13°C la vitalità viene rapidamente perduta. Inoltre, è molto sensibile ai normali procedimenti di sanitizzazione delle acque (es. clorazione) (Biffi Gentili *et al.*, 1985). Nelle carcasse animali, nell’acqua e nel terreno può conservare l’infettività per tempi più prolungati, mentre il congelamento ne prolunga notevolmente la vitalità (Tasselli 1988).

### *La malattia*

*F. tularensis* è un batterio intracellulare facoltativo che replica nei macrofagi (Tärnvik, 1989). Dopo la penetrazione nell’organismo, che avviene per via transcutanea, transmucosale, digerente o respiratoria, il batterio si localizza ai linfonodi regionali e, di qui, può essere disseminato nell’intero organismo.

Nelle fasi iniziali si ha batteriemia cui segue, nelle forme localizzate, una reazione focale associata a necrosi suppurativa. La lesione assume ben presto un carattere granulomatoso, del tutto simile a quello della tubercolosi (Pullen e Stuart, 1945). Dopo esposizione per inalazione, si verifica una grave flogosi emorragica delle vie respiratorie basse, che può evolvere verso la broncopolmonite (Syrjälä *et al.*, 1986).

Clinicamente l’esordio della malattia è contraddistinto, in genere, da febbre (38-

40°C), brividi, dolori generalizzati, tosse e, più di rado, nausea, vomito e diarrea. I quadri clinici primari nell'uomo sono diversificati e comprendono le seguenti forme: ulceroghiandolare, oculoghiandolare, ghiandolare, orofaringea, polmonare, tifoidea, setticemica (Dennis *et al.*, 2001).

La forma ulceroghiandolare insorge tipicamente dopo manipolazione di carcasse contaminate o in seguito a puntura di artropodi, ed è contraddistinta dalla formazione, nel punto di penetrazione del batterio, di una papula che successivamente si ulcera e si trasforma in un'escara. Nella forma oculoghiandolare, che segue l'infezione per via oculare, il processo ulcerativo si instaura a livello congiuntivale ed è accompagnato da chemosi, vasculite e marcata linfadenite regionale. La forma ghiandolare semplice si differenzia dalla precedenti, in quanto consiste una linfadenopatia non associata alla formazione di lesioni ulcerose.

La tularemia orofaringea si instaura quando l'infezione avviene per via orale oppure per inalazione di aerosol contaminato (Dahlstrand *et al.*, 1971; Tärnvik A. *et al.*, 1996) e si manifesta con stomatite o, più sovente, faringo-tonsillite essudativa o ulcerosa, accompagnata da evidente tumefazione dei linfonodi satelliti.

La forma polmonare può scatenarsi dopo infezione per via respiratoria oppure per localizzazione secondaria. Si può presentare sotto forma di malattia acuta grave, ad esito rapidamente letale; tuttavia non mancano casi di malattia ad andamento lieve, evidenziati dalla presenza di scarso infiltrato polmonare o lesioni granulomatose disseminate nel parenchima.

La forma tifoidea consiste in una malattia sistemica, talvolta con manifestazioni di tipo gastro-intestinale, non associata a sintomi indicativi della via di infezione né della localizzazione anatomica.

Anche nella forma setticemica il quadro clinico non è indicativo della porta d'ingresso del batterio; si tratta di una forma più grave di quella tifoidea, potenzialmente ad esito letale e caratterizzata da shock tossico e stato comatoso (Sunderrajan *et al.*, 1985).

### *F. tularensis* coma arma biologica

Dopo i recenti attentati terroristici, l'impiego di armi biologiche incombe sui conflitti armati e gli atti terroristici all'alba del nuovo millennio. La messa al bando delle armi chimiche e biologiche, imposta dal protocollo di Ginevra già nel 1925, non sembra aver scalfito la politica bellica di molti Paesi (e forse di organizzazioni terroristiche) che apertamente, o più verosimilmente di nascosto, continuano a studiarle e produrle, magari con il pretesto vero o presunto di attrezzarsi in vista di un eventuale attacco di questo tipo.

Nell'elenco dei microrganismi potenzialmente utilizzabili come arma biologica è presente, insieme ad agenti di altre malattie (es. carbonchio, brucellosi, peste, febbre Q, vaiolo, encefalite da virus, febbre virale emorragica), anche *F. tularensis*.

In effetti, è noto che durante gli anni '30 l'impiego bellico di *F. tularensis* venne studiato dai laboratori dei reparti specializzati giapponesi nel corso dell'occupazione della Cina (Harris, 1992). È stato anche ipotizzato da Alibeck (cit. da Dennis *et al.*, 2001), un esperto in armi biologiche della ex-U.R.S.S., che le epidemie di tularemia che colpirono migliaia di soldati tedeschi e sovietici sul fronte orientale durante la II

guerra mondiale fossero state originate da una disseminazione intenzionale dell'agente.

Gli elementi sostanziali a favore dell'utilizzo di *F. tularensis* come arma biologica derivano soprattutto dalla bassa carica infettante (1-10 microrganismi per via respiratoria), dalla facilità di disseminazione e dal non trascurabile potere patogeno (Henderson, 1999; Kortepeter e Parker, 1999).

In uno studio eseguito nel 1970 da un comitato di esperti del W.H.O., è stato creato un modello (Dennis *et al.*, 2001) che configura un terrificante scenario epidemico: la dispersione di un aerosol di 50 kg di un ceppo altamente virulento su una metropoli di 5 milioni di abitanti causerebbe 19.000 morti e 250.000 casi di malattia grave con un costo economico valutabile attorno a 5,5 miliardi di dollari/100.000 persone esposte (Kaufmann *et al.*, 1997).

**Parole chiave:** *Francisella tularensis*, tularemia, epidemiologia, trasmissione.

**Key words:** *Francisella tularensis*, tularemia, transmission, epidemiology

**RIASSUNTO** - Vengono presi in considerazione alcuni aspetti caratteristici della tularemia, una importante zoonosi presente in molti Paesi dell'emisfero nord. Particolare attenzione viene rivolta alla tassonomia corrente, alla gamma di animali ospiti potenziali, alla distribuzione geografica, alle modalità di contagio, ai meccanismi di persistenza in natura dell'agente ed alle forme cliniche con cui la malattia si può manifestare nell'uomo.

**SUMMARY** - This paper is a short review of some basic features of tularemia, an important zoonosis spread over the Northern hemisphere. Particular reference is devoted to: the current taxonomy, the host range, the geographic distribution, the ecology of the agent and its persistence in the environment, the various clinical forms of the disease.

### *Bibliografia*

1. AKERMAN M.B., EMBIL J.A. (1982). Antibodies to *Francisella tularensis* in the snowshoe hare (*Lepus americanus struthopus*) populations of Nova Scotia and Prince Edward Island and in the moose (*Alces alces americana* Clinton) populations of Nova Scotia. *Can. J. Microbiol.*, 28, 403-405.
2. ANDA P., SEGURA DEL POZO J., DIAZ GARCIA J.M., ESCUDERO R., GARCIA PENA F.J., LOPEZ VELASCO M.C., SELLEK R.E., JIMENEZ CHILLARON R.J., SANCHEZ SERRANO L.P., MARTINEZ NAVARRO J.F. (2001). Waterborne outbreak of tularemia associated with crayfish fishing. *Emerg. Infect. Dis.*, 7, n. 3, suppl.
3. BALDWIN C.J., PANCIERA R.J., MORTON R.J., COWELL A.K., WAURZYNIAK B.J. (1991). Acute tularemia in three domestic cats. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 199, 1602-1605.
4. BARDELLI P., RAVAGLIA F. (1931). Infezione nelle lepri di una riserva di caccia riferibile a Tularemia. *Annali Ig.*, 41, 776.

5. BELL F. (1980). Tularemia. In: Steele J.H. (ed.), CRC Handbook Series in Zoonoses. Section A: Bacterial, Rickettsial, and Mycotic Diseases. Boca Raton, Florida, CRC Press, pp 161-163.
6. BELL F., SCOTT S. (1975). Chronic shedding tularemia nephritis in rodents: possible relation to occurrence of *Francisella tularensis* in lotic waters. J. Wild. Dis., 11, 421-430.
7. BIANCHI L. (1966). Su alcuni casi di tularemia riscontrati in Lombardia: osservazioni sieroinmunologiche ed istopatologiche. Giorn. Mal. Infett. Parass., 18, 443-448.
8. BIFFI GENTILI S., LEONCINI F., LANCIOTTI E., COMODO N. (1985). L'azione del cloro e della temperatura sulla sopravvivenza di *Francisella tularensis*. Ig. Mod., 83, 729-736.
9. BRADLEY K., GRUBBS M., LYTLE M., CRUTCHER M., SMITH K., KLEIM P. (2001). Tularemia - Oklahoma, 2000. CDC Morb. Mort. Weekly Rep., 50, 704-706.
10. CALHOUN E.L. (1956). Dogs and other mammals as host of Tularemia and of vector ticks in Arkansas. Am. J. Hyg., 63, 127-130.
11. CALLE P.P., BOWERMAN D.L., PAPE W.J. (1993). Nonhuman primate tularemia (*Francisella tularensis*) epizootic in a zoological park. J. Zoo Wildlife Med., 24, 459-468.
12. CAPELLAN J., FONG I.W. (1993). Tularemia from a cat bite: case report and review of feline-associated tularemia. Clin. Infect. Dis., 16, 472-475.
13. CARLISLE H.N., HINCHLIFFE V., SASLAV S. (1962). Immunodiffusion studies with *Pasteurella tularensis* antigen rabbit antibody systems. J. Immunol., 89, 638-644.
14. CLARRIDGE J.E., RAICH T.J., SJOSTED A., SANDSTROM G., DAROUCHE R.O., SHAWAR R.M., GEORGHIOU P.R., OSTING C., LAN V.O. (1996). Characterization of two unusual clinically significant Francisella strains. J. Clin. Microb., 34, 1995-2000.
15. DAHLSTRAND S., RINGERTZ O., ZETTERBERG A. (1971). Airborne tularemia in Sweden. Scand. J. Infect. Dis., 3, 7-16.
16. DENNIS D.T., INGELSBY T.V., HENDERSON D.A., BARTLETT J.G., ASCHER M.S., EITZEN E., FINE A.D., FRIEDLANDER A.M., HAUER J., LAYTON M., LILLIBRIDGE S.R., McDADE J.E., OSTERHOLM M.T., O'TOOLE T., PARKER G., PERL T.M., RUSSELL P.K., TONAT K. (2001). Tularemia as a biological weapon. Medical and public health management. J.A.M.A., 285, 2763-73.
17. DOYLE L., MARKOVITS J., ROBERTS J. (1988). Tularemia (*Francisella tularensis*) in a squirrel monkey (*Saimiri sciureus*). Lab. Anim. Sci., 38, 491-492.
18. DUFRÈNE M., VAISSAIRE J. (1998). Épidémiologie de la tularémie dans le monde. Essai de synthèse bibliographique. Bull. Acad. Vét. France, 71, 67-78.
19. EIGELSBACH H.T., MCGANN V. (1984). Genus *Francisella*. In: Krieg N.R., Holt J.G. (eds.), Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol. 1, William & Wilkins, Baltimore/London.

20. EMMONS R.W., RUSKIN J., BISETT M.L., UYEDA D.A., WOOD R.M., LEAR C.L. (1976). Tularemia in a mule deer. *J. Wild. Dis.*, 12, 459-463.
21. ERCOLINI C., FISICHELLA S., PASINI G., MIGNANI E. (1991). Rilievi siero-epidemiologici sulla diffusione dell'infezione tularemica in provincia di La Spezia. *Nuovo Progr. Vet.*, 10, 358-361.
22. FORSMAN M., SANDSTRÖM G., JAURIN B. (1990). Identification of *Francisella* species and discrimination of type A and type B strains of *F. tularensis* by 16s rRNA analysis. *Appl. Environm. Microbiol.*, 56, 949-955.
23. GRECO D., ALLEGRINI G., TIZZI T., NINU E., LAMANNA A., LUZI S. (1987). A waterborne tularemia outbreak. *Eur. J. Epidemiol.*, 3, 35-38.
24. GURYCOVA D. (1998). First description of *Francisella tularensis* subsp. *tularensis* in Europe. *Eur. J. Epidemiol.*, 14, 797-802.
25. GURYCOVA D., KOCIANOVA E., VYROSTEKOVA V., REHACEK J. (1995). Prevalence of ticks infected with *Francisella tularensis* in natural foci of tularemia in western Slovakia. *Europ. J. Epidem.*, 11, 469-474;
26. GUSTAFSON B.W., DeBOWES L.J. (1996). Tularemia in a dog. *J. Am. Anim. Hosp. Ass.*, 32, 339-341.
27. HARRIS S. (1992). Japanese biological warfare research on humans: a case study of microbiology and ethics. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 666, 21-52.
28. HAUGH R.J., PEARSON A.D. (1972). Human infection with *F. tularensis* in Norway. *Acta Pathol. Scand. Section B*, 80, 273-80.
29. HENDERSON D.A. (1999). The looming threat of bioterrorism. *Science*, 26, 1279-1282.
30. HILLMAN C.C., MORGAN M.T. (1937). Tularemia: report of fulminant epidemic transmitted by deer-fly. *J. Am. Med. Assoc.*, 108, 538.
31. HOFF G.L., BIGLER W.J., HEMMERT W., LAWRENCE D. (1975). Tularemia in Florida: *Sylvilagus palustris* as a source of human infection. *J. Wild. Dis.*, 11, 560-561.
32. HOLLIS D.G., WEAVER R.E., STEIGERWALT A.G., WENGER J.D., MOSS C.W., BRENNER D.J. (1989). *Francisella phylomiragia* com. nov. (formerly *Yersinia philomiragia*) and *Francisella tularensis* biogroup *novicida* (formerly *Francisella novicida*) associated with human disease. *J. Clin. Microbiol.*, 1989, 27, 1601-18.
33. HOOD A.M. (1977). Virulence factors of *Francisella tularensis*. *J. Hyg.* 79, 47-60.
34. HOPLA C.E. (1974). The ecology of tularemia. *Adv. Vet. Sci. Comp. Med.*, 18, 25-53.
35. HUBÁLEK Z., HALOUZKA J. (1997). Mosquitoes (*Diptera: Culicidae*), in contrast to ticks (*Acar: Ixodidae*), do not carry *Francisella tularensis* in a natural focus of tularemia in the Czech Republic. *J. Med. Entom.*, 34, 660-663.
36. JANTZEN E., BERDAL B.P., OMLAND T. (1979). Cellular fatty acid composition of *Francisella tularensis*. *J. Clin. Microbiol.*, 10, 928-930.

37. KAUFMANN A.F., MELTZER M.I., SCHMID G.P. (1997). The economic impact of a bioterrorist attack: are prevention and post-attack intervention programs justifiable? *Emerg. Infect. Dis.*, 2, 83-94.
38. KORTEPETER M.G., PARKER G.W. (1999). Potential biological weapons threats. *Emerg. Infect. Dis.*, 5, 523-527.
39. LEONCINI F. (1990). Tularemia. *Giorn. Mal. Inf. Parass.*, 42, 284-291.
40. LEVESQUE B., DE SERRES G., HIGGINS R., D'HALEWYN M.A., ARTSOB H., GRONDIN J., MAJOR M., GARVIE M., DUVAL B. (1995). Seroepidemiologic study of three zoonoses (leptospirosis, Q fever, and tularemia) among trappers in Quebec, Canada. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 2, 496-498.
41. MAGNINO S., FABBI M., LUINI M., CERVIO G., GUALLINI L., REDAELLI G.L. (1990). Indagine epidemiologica sulla diffusione della tularemia nel comprensorio dell'Oltrepò pavese. *Arch. Vet. Ital.*, 41, 1-22.
42. McCOY G.W. (1911). A plague-like disease of rodents. *Public Health Bulletin. Washington*, 43, 53-71.
43. McCOY G.W., Chapin C.W. (1912). Further observations on a plague-like disease of rodents with a preliminary note of the causative agent *P. tularensis*. *Journal of Infectious Diseases*, 10, 61-72.
44. MIGNANI E., PALMIERI F., FONTANA M., MARIGO S. (1988). Italian epidemic of waterborne tularaemia. *Lancet*, 2, 1423.
45. MIGNANI E., PALMIERI F., PASINI G., REBIZZO F., FONTANA M., BONANNI P. (1991). Diffusione della Tularemia umana in Val di Vara (La Spezia). *Giorn. Mal. Inf. Parass.*, 43, 999-1001.
46. MOLLARET H.H., BOURDIN M. (1972). Le diagnostic de la tularémie humaine. *Méd. Mal. Infect.*, 11, 419-22.
47. MOLLARET H.H., GUILLON J.C., ARDOUIN P., CHATELAIN J., HANNOUN C., CAPPONI M., DUMAS N. (1974). Histoire d'un broyat de tiques. *Méd. Mal. Infect.*, 4, 369-372.
48. MÖRNER T. (1992). The ecology of tularemia. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 11, 1123-1130.
49. MÖRNER T., MATTSSON R. (1983). Tularemia in a rough-legged Buzzard (*Buteo lagopus*) and a Ural owl (*Strix uralensis*). *J. Wildlife Dis.*, 19, 360-361.
50. OLSEN P.F. (1975). Tularemia. In: Hubbert W.T., McCulloch W.F., Schnurremberger P.T. (eds.), *Diseases transmitted from animals to man*. Springfield, pp. 191-201.
51. OLSUFIEV N.G., EMELYANOVA O.S., DUNAYEVA T.N. (1959). Comparative study of strains of *B. tularensis* in the old and new world and their taxonomy. *J. Hyg. Epidem. Microbiol. Immunol.*, 3, 138-149.
52. OLSUFJEV N.G. (1974). Tularemia. WHO Inter-regional Travelling Seminar on Natural Foci of Zoonoses, Moscow. Cit. da Mörner, 1992.
53. OLSUFJEV N.G., EMELYANOVA O.S., DUNAYEVA T.N. (1959). Comparative study of strains of *Bacterium tularensis*. II. Evaluation of criteria of virulence of

*Bacterium tularense* in the old and the new world and their taxonomy. J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol., 3, 138-149.

54. PALARCHI M., MICOZZI G., ORLANDI F. (1989). Isolamento della *Francisella Tularensis* da topo (*Apodemus*) catturati durante un'epidemia umana di Tularemia. Nuovo Progr. Vet., 4, 142-144.

55. PEARSON A. (1988). Tularemia. In: Palmer S.R., Lord Soulsby, Simpson D.I.H. (eds.) Zoonoses. Biology, clinical practice and public health control., Cap. 25, pp. 267-280.

56. PENCEA I., BERLOVICI C., HOISIE S., STRATON C., POPESCU C., MIHAIL A. (1974). Valeur épidémiologique de l'examen bactériologique des rongeurs et des tiques, et de la recherche des agglutinines tularémiques chez les animaux domestiques pour l'identification d'un foyer naturel. Méd. Mal. Infec., 4, 99-102.

57. PENN R.L. (1995). *Francisella tularensis* (tularemia). In: Mandell G.L., Bennett J.E., Dolin R. (eds.), Principles and Practice of Infectious Diseases. Churchill Livingstone, New York, pp. 2060-68.

58. PERRON D. (1984). Tularaemia: special epidemiological situation in Richelieu Valley, Quebec - Role of the muskrat (*Ondatra zibethica*). Méd. Vét. Québec., 14, 183-185.

59. POLACK F.P., HARRINGTON S.M., WINKELSTEIN J.A., MERZ W.G., WILLOUGHBY R.E. (1998). Recurrent *Francisella philomiragia* sepsis in chronic granulomatous disease. Ped. Infect. Dis. J., 17, 442-443.

60. POSTHAUS H., WELLE M., MÖRNER T., NICOLET J., KUHNERT P. (1998). Tularemia in a common marmoset (*Callithrix jacchus*) diagnosed by 16S rRNA sequencing. Vet. Microbiol., 61, 145-150.

61. PUENTE REDONDO De La V.A., GARCIA Del BLANCO N., GUTIERREZ-MARTIN C.B., GARCIA PENA F.J., RODRIGUEZ FERRI E.F. (2000). Comparison of different PCR approaches for typing of *Francisella tularensis* strains. J. Clin. Microbiol., 38, 1016-22.

62. PULLEN R.L., STUART B.M. (1945). Tularemia: analysis of 225 cases. J.A.M.A., 129, 495-500.

63. QUAN S.F., Mc MANUS A.G., von FINTEL H. (1956). Infectivity of tularemia applied to intact skin and ingested in drinking water. Science, 123, 942-943.

64. REHBINDER C., KARLSSON K.A. (1979). Tularemia in the raven (*Corvus corax*). Nord. Veterinaarmed., 31, 339.

65. REILLY J.R. (1970). Tularemia. In: Davis J.D., Karstad L.H., Trainer D.O. (eds.) Infectious diseases of wild mammals. 1st ed., Ames, Iowa State Univ. Press, pp 175-200.

66. RINALDI A., CERVIO G. (1967). Ricerche sui ceppi di *Francisella tularensis* isolati in Italia. Clin. Vet., 90, 72-74.

67. RINALDI A., CERVIO G., FRITTOLE M., MANDELLI G. (1964). Descrizione di un focolaio di Tularemia in Italia (note preliminari). Sel. Vet., 5, 353-363.

68. ROHRBACH B.W. (1988). Tularemia. J. Am. Vet. Med. Assoc., 193, 428-432.

69. RUDESILL C.L. (1937). Tularemia from bite of a nursing kitten. J. Am. Med. Assoc., 108, 2118.
70. SASLAW F., EIGELSBACH H.T., PRIOR J.A., WILSON H.E., CARHART S (1961). Tularemia vaccine study. II. Respiratory challenge. Arch. Intern. Med., 107, 702-714.
71. SENALDI G., DI PERRI G., MARONE P., MINOLI L. (1987). Un'antropozoonosi ricorrente nell'Oltrepò Pavese: la tularemia. Giorn. Mal. Inf. Parass., 39, 491-493.
72. SUNDERRAJAN E.V., HUTTON J., MARIENFELD D. (1985). Adult respiratory distress syndrome secondary to tularemia pneumonia. Arch. Intern. Med., 154, 1435-37.
73. SYRJÄLÄ H., SUTINEN S., JOKINEN K., NIEMINEN P., TUUPONEN T., SALMINEN A. (1986). Bronchial changes in airborne tularemia. J. Laryngol. Otol., 100, 1169-76.
74. TÄRNVIK A. (1989). Nature of protective immunity to *Francisella tularensis*. Rev. Infect. Dis., 11, 440-451.
75. TÄRNVIK A., SANDSTRÖM G., SJÖSTEDT A. (1996). Epidemiological analysis of tularemia in Sweden 1931-1993. FEMS Immunol. Med. Microbiol., 13, 201-204.
76. TASSELLI E., MICOZZI G., PALARCHI M., BRESSAN S., LEONCINI F., BIFFI GENTILI S., DI PIETRO M., PAOLI M. (1984). Evoluzione della Tularemia in Toscana. Nuovo Progr. Vet., 22, 1075.
77. TASSELLI E., MICOZZI G., PALARCHI M., ORLANDI F., LEONCINI F., BIFFI GENTILI S., DI PIETRO M., MONTAINI C. (1988). La tularemia in Toscana dal 1982 al 1987. Obiet. Doc. Vet., 9, 23-28.
78. WENGER J.D., HOLLIS D.G., WEAVER R.E., BAKER C.N., BROWN G.R., BRENNER D.J., BROOME C.V. (1989). Infection caused by *Francisella philomiragia* (formerly *Yersinia philomiragia*). A newly recognized human pathogen. Ann. Intern. Med., 110, 888-892.
79. WOODS J.P., PANCIERA R.J., MORTON R.J., LEHENBAUER T.W. (1998) Feline tularemia. Comp. Contin. Educ. Pract. Vet., 20, 442-457.

## **INDAGINE SULL'ATTIVITÀ DISINFETTANTE DEI PEROSSIDI IN PRESENZA DI SOSTANZE ORGANICHE E SU BIOFILM BATTERICI**

Giuliano Sansebastiano<sup>1</sup>, Sandra Mezzetta<sup>1</sup>, Alessia Giannoni<sup>1</sup>,  
Franco Brindani<sup>2</sup>, Cristina Bacci<sup>2</sup>, Silvia Bonardi<sup>2</sup>

### *INTRODUZIONE*

La pulizia e la disinfezione sono operazioni essenziali nei processi di lavorazione alimentare e la loro corretta esecuzione influisce in maniera significativa sulla qualità finale del prodotto (15).

Sulle superfici e sulle attrezzature utilizzate nella preparazione degli alimenti si annidano inevitabilmente materiale organico e microrganismi che devono essere rimossi. Il lavaggio e la disinfezione devono essere eseguiti con regolarità considerando anche il tipo di superficie da pulire, di sporco e di contaminazione e i materiali usati per la pulizia.

Per quanto riguarda la disinfezione nell'industria alimentare i composti più frequentemente usati sono sicuramente i perossidi e tra questi il perossido di idrogeno e l'acido peracetico.

Questi composti, anche se sono fortemente diluiti, mantengono la loro efficacia su un ampio spettro di microrganismi, sono relativamente poco tossici per l'uomo e gli animali e non provocano danni all'ambiente (4).

Il perossido di idrogeno è utilizzato nell'industria alimentare per il suo potere ossidante nel confezionamento asettico, con la combinazione di elevate temperature (80°C) ed alte concentrazioni (35%HP) per circa 3-9 secondi (3).

Negli ultimi tempi il perossido di idrogeno (HP) viene utilizzato nella sterilizzazione di serbatoi per latte e succhi di frutta e per decontaminare le mele: infatti un lavaggio effettuato con una soluzione di HP al 5% a 50° C porta ad una riduzione dei microrganismi di 3-4 unità logaritmiche (22).

L'acido peracetico (PAA) è un composto organico in fase liquida che viene utilizzato come sanificante soprattutto nelle industrie alimentari e farmaceutiche.

Possiede delle proprietà simili al perossido di idrogeno, ma con il vantaggio di essere maggiormente solubile nei lipidi e di non essere inattivato dalle catalasi e dalle perossidasi.

Il PAA nell'industria alimentare viene utilizzato per sterilizzare e disinfettare vasche in acciaio inossidabile ed in vetro, per tubazioni, per cisterne adibite al trasporto di sostanze alimentari (10); viene adottato inoltre per la pulizia degli impiant-

---

<sup>1</sup> Istituto di Igiene, Facoltà di Medicina e Chirurgia, Università degli Studi di Parma.

<sup>2</sup> Dipartimento di Salute animale, Sez. di Ispezione degli Alimenti di origine animale, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Parma

ti di manipolazione di carne e pollame, negli stabilimenti per la conservazione di alimenti in scatola, nei caseifici, nelle fabbriche di birra, vino e bevande non alcoliche (10).

Il PAA è molto utile nei caseifici: a 150-300 ppm di concentrazione è efficace contro i batteriofagi attivi su starter per formaggi e yogurt.

L'azione microbica dei perossidi è influenzata da diversi fattori quali il pH, la temperatura e la presenza di sostanze organiche; un altro aspetto molto importante nell'industria alimentare è rappresentato dal tipo di substrato sul quale agisce il disinfettante quali ad esempio gli aggregati batterici misti a sostanze organiche e inorganiche che costituiscono il cosiddetto biofilm.

In natura i microrganismi sono attirati da superfici solide su cui si depositano e, trovando nutrienti sufficienti per vivere, vi aderiscono e si moltiplicano attivamente formando colonie. Questo accumulo di cellule può ingrandirsi a sufficienza per "intrappolare" detriti organici ed inorganici, nutrienti ed anche altri microrganismi formando, in tal modo, quell'entità che viene definita "biofilm", termine con cui si identifica un'attiva matrice biologica, adesa ad una superficie solida, costituita da cellule batteriche e da sostanze extracellulari (1).

Lo sviluppo di biofilm può verificarsi, praticamente, su qualsiasi superficie in cui siano presenti microrganismi vitali: per la maggior parte di questi, infatti, la presenza di un substrato solido cui aderire è fondamentale per la normale proliferazione. La formazione di un biofilm è, comunque, un processo dinamico e complesso che prevede un susseguirsi di fasi.

Il trasporto di sostanze alimentari all'interno di impianti industriali consente il contatto tra superfici, molecole organiche e microrganismi. L'accumulo di molecole sull'interfaccia liquido-solido determina una maggiore concentrazione di nutrienti rispetto alla fase liquida, favorendo la formazione di un film di "condizionamento" (15) che altera alcune caratteristiche fisico-chimiche della superficie quali idrofobicità e carica elettrostatica (9). La presenza di microscopiche soluzioni di continuità, anche in materiali come l'acciaio inox o il vetro, e la morbidezza di altri (teflon, nylon) favoriscono la ritenzione di cellule batteriche (13). Alcune proteine del siero di latte, inoltre, determinano un aumento dell'adesività ai materiali di cui sopra da parte di molti microrganismi (24).

Inizialmente, alla superficie "condizionata" aderiscono batteri i cui legami con il substrato sono deboli (forze di van der Waals, forze elettrostatiche, interazioni idrofobiche) e le cellule evidenziano ancora movimenti Browniani. A questo stadio l'adesione è ancora reversibile e per rimuovere i microrganismi è sufficiente un risciacquo (19). Successivamente, l'adesione dei batteri diviene molto tenace grazie alla presenza di appendici quali flagelli, fimbrie, pili, alla secrezione di fibrille di esopolisaccaridi nonché all'instaurarsi di legami dipolo-dipolo, legami idrogeno, ionici e covalenti (16). La rimozione delle cellule in questa fase è problematica e si rende necessario spazzolare e raschiare la superficie per ottenere qualche risultato. Le spore batteriche, in particolare, evidenziano una notevole capacità adesiva grazie alla loro elevata idrofobicità ed alla presenza di una struttura lassa e sottile: l'esosporio. Inoltre esse possono germinare, moltiplicarsi e produrre ulteriori quantitativi di esopolisaccaridi consolidando la formazione della pellicola.

L'aderenza dei microrganismi è condizionata dal pH e dalla temperatura, rison-

trandosi un massimo di adesività quando i due parametri prima ricordati si avvicinano a quelli ottimali per una determinata specie.

Le cellule batteriche, adese irreversibilmente, si moltiplicano utilizzando le sostanze nutritive presenti nel film di condizionamento e nel fluido circostante formando delle microcolonie che si fondono tra loro e ricoprono, poco alla volta, tutta la superficie su cui poggiano. In questa fase sono prodotti ulteriori quantitativi di esopolisaccaridi, costituenti principali del glicocalice batterico, struttura che circonda la capsula e lo strato mucoso. Vengono, in tal modo, imbrigliati altri microrganismi facilitando l'ancoraggio delle cellule al substrato e rendendo le colonie meno sensibili alle fluttuazioni dell'ambiente circostante (5). Il glicocalice protegge, infatti, le cellule dalla disidratazione in quanto può trattenere quantitativi di acqua corrispondenti a parecchie volte il suo peso e cederla lentamente.

Un biofilm è, quindi, formato da cellule batteriche vitali in continua crescita, da esopolisaccaridi e da eventuali sostanze organiche o inorganiche intrappolate. La sua formazione è un processo lento, ma si può raggiungere anche lo spessore di qualche millimetro in pochi giorni (20). Generalmente i biofilm formati da colonie eterogenee sono più spessi e più stabili di quelli monospecie (23).

Dopo qualche tempo i batteri adesi al biofilm sono in grado di staccarsi, venendo a costituire una massa indipendente che periodicamente si sfoglia e, con la finalità di sopravvivere e di colonizzare altre nicchie, può dare origine alla formazione di un nuovo biofilm in un altro posto. Questo fenomeno può essere favorito dalle forze di scorrimento del fluido, dalla presenza di determinati composti o dalle caratteristiche delle singole specie batteriche (18, 20).

Nell'industria alimentare il biofilm causa, in genere, notevoli problemi di ordine tecnologico impedendo o rallentando il flusso di calore, aumentando la resistenza di un fluido allo scorrimento, favorendo la corrosione e determinando anche perdite di prodotto (6). Inoltre, dal punto di vista igienico-sanitario esso riduce sensibilmente l'efficacia di un disinfettante convenzionale che riesce a penetrare solo parzialmente nel fitto strato di polimeri per giungere a contatto con le cellule batteriche (7). Va tenuto presente, inoltre, che tali cellule non presentano solamente caratteristiche alterative, ma sono dotate spesso di elevate potenzialità patogene: non di rado viene segnalata la presenza nei biofilm di *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter jejuni* ed *Escherichia coli* O157:H7 (8, 11, 17, 25)

Il presente lavoro è stato impostato per confrontare l'attività battericida del perossido di idrogeno e dell'acido peracetico nei confronti di *Listeria innocua*, *Staphylococcus aureus* ed *Escherichia coli* in assenza e in presenza di sostanze organiche.

In via del tutto preliminare, è stata anche verificata l'azione dei due disinfettanti su biofilm batterici artificialmente preparati con sospensioni di *E. coli*.

## MATERIALI E METODI

### **Disinfettanti**

Sono state usate due preparazioni commerciali concentrate, una di PAA al 35% e l'altra di perossido d'idrogeno (HP) al 30% .

Le concentrazioni dei singoli prodotti sono state determinate con metodica iodometrica.

### ***Preparazione delle soluzioni***

Disinfettanti: tutte le prove sono state eseguite, ad un pH prossimo a 7, utilizzando la soluzione tampone di Sørensen (fosfato monopotassico 1/15 M e fosfato disodico 1/15 M) alla quale vengono aggiunti volumi variabili di PAA o HP a seconda della concentrazione da testare.

Per limitare il più possibile l'autodecomposizione dei principi attivi, le soluzioni sono state preparate pochi minuti prima della prova d'inattivazione, in vetreria lavata con biossido di cloro.

Sostanza organica: il latte, utilizzato come sostanza organica nelle prove di inattivazione, è stato preparato aggiungendo 100 ml di soluzione fisiologica sterile ad una quantità nota di latte in polvere per concentrazioni finali di 0.25%, 2,5% e 25%.

### ***Prove di inattivazione condotte su *Listeria innocua*, *Staphylococcus aureus* ATCC 33862 ed *Escherichia coli* ATCC 25922***

#### ***Curva di taratura dei microrganismi***

Per standardizzare il titolo del microrganismo, dopo averlo fatto crescere in condizioni ottimali in TSB (Tryptone Soya Broth), sono state preparate le diluizioni per la lettura allo spettrofotometro a lunghezza d'onda fissa di 550 nm. Dalla relazione lineare tra i valori di assorbanza così ottenuti ed il titolo corrispondente del microrganismo in brodo (calcolato tramite semina e successiva conta su piastra per ciascun microrganismo di TSA-Tryptone Soya Agar), è stata tracciata una curva di taratura per ciascun microrganismo, da cui ricavare, successivamente, il titolo delle sospensioni batteriche da utilizzare nelle prove di inattivazione.

#### ***Preparazioni delle sospensioni batteriche***

I microrganismi sono stati seminati in TSB (Tryptone Soya Broth) e posti in termostato: *S. aureus* ed *E. coli* a 37°C per 24 ore, *L. innocua* a 32°C per 48 h in modo da ottenere batteri in fase esponenziale di crescita. Prima di sospendere il microrganismo si è proceduto alla lettura dell'assorbanza a 550 nm della sospensione intera o diluita in TSB fino ad ottenere il valore corrispondente al titolo di microrganismo richiesto. Tale corrispondenza è stata ricavata dalle rispettive curve di taratura precedentemente costruite.

Successivamente, per eliminare ogni traccia di sostanze organiche presenti nel brodo, la sospensione è stata centrifugata a 2000 rpm per 5 minuti per permettere la sedimentazione dei microrganismi sul fondo e quindi l'allontanamento del brodo. Si è ripreso il sedimento con soluzione fisiologica sterile con un volume sufficiente ad ottenere il titolo desiderato.

#### ***Prove di presenza o assenza***

In tali prove i titoli dei batteri sono risultati compresi tra  $10^6$  e  $10^7$  ufc/ml.

Le prove di presenza o assenza sono state effettuate, addizionando in beuta, 1 ml di sospensione batterica a titolo noto a 99 ml di soluzione contenente PAA o HP. Dopo 0, 5 e 15 minuti di contatto sono stati trasferiti 5 ml di tali soluzioni in provette contenenti 5 ml di terreno neutralizzante. Trascorsi 10 minuti, necessari per bloccare l'azione di PAA o di HP, si è seminato 1 ml della soluzione neutralizzata in provetta con 9 ml di TSB e 0,1 ml in piastra con TSA per determinare la crescita del bat-

terio. Dopo 24 h a 37°C, per *S. aureus* ed *E. coli*, o 48 h a 32°C per *L. innocua*, si è valutata la presenza/assenza di crescita microbica in piastra e la torbidità/limpidezza del brodo. Ai tempi t0 e t15 di ogni prova è stata effettuata contemporaneamente una titolazione iodometrica per determinare il potere ossidante delle soluzioni di perossidi.

#### *Prove di inattivazione in presenza di sostanze organiche*

In tali prove i titoli dei batteri sono risultati compresi tra  $10^8$  e  $10^9$  ufc/ml.

Le prove di inattivazione sono state condotte aggiungendo, in provetta, 0,25 ml di sospensione batterica a titolo noto a 25 ml di una soluzione costituita da una parte di PAA o di HP e da una parte di latte in polvere reidratato. Tutte le soluzioni sono state mantenute a contatto con i batteri per 0,5 minuti e 3 ore a temperatura ambiente (20°C).

Trascorso il tempo di contatto l'attività battericida è stata bloccata aggiungendo, in provetta, a 2,5 ml di soluzione di campione 2,5 ml di soluzione neutralizzante.

Per stabilire la sopravvivenza dei batteri, dopo l'azione neutralizzante, si è effettuata la semina delle soluzioni su piastre di TSA. Dopo le opportune incubazioni è stata valutata la crescita dei batteri.

Per ogni prova è stata effettuata una titolazione iodometrica ai tempi 0,5 minuti e 3 ore, per valutare il potere ossidante della soluzione di PAA o di HP.

#### *Prove di inattivazione dei biofilm*

Anche in queste prove sono stati utilizzati titoli batterici tra  $10^8$  e  $10^9$  ufc/ml.

Per permettere l'adesione dei microrganismi sono state inserite lastrine di acciaio inox (spessore=2 mm, larghezza=5.25 mm, lunghezza=390 mm), precedentemente sgrassate e sterilizzate, in provette contenenti sospensioni batteriche a titolo noto per 1 ora o 24 ore di contatto a temperatura ambiente, in condizioni statiche (19).

Trascorso il tempo stabilito per la formazione dei biofilm i "coupon" sono stati prelevati, con pinze sterili, risciacquati con acqua distillata sterile, per allontanare i microrganismi non adesi, e successivamente trasferiti in provette contenenti la soluzione disinfettante di PAA o di HP. Trascorsi 10 minuti di contatto il coupon è stato trasferito in soluzione neutralizzante per altri 10 minuti. Infine è stato estratto il coupon ed è stato raschiato con un tampone di cotone sterile che è stato successivamente seminato su TSA; su un'altra serie di piastre è stata posata direttamente la lastrina per evidenziarne la completa pulizia. Trascorsi i necessari tempi di incubazione è stato possibile valutare la crescita o meno del microrganismo trattato.

Dopo aver condotto parallelamente sia la raschiatura che la semina diretta del coupon si è scelto di procedere unicamente secondo quest'ultima procedura; con la raschiatura infatti non era possibile prelevare tutti i microrganismi adesi ed inoltre si è verificata la crescita dei microrganismi anche dove con lo striscio ne era risultata l'inattivazione.

#### *Controlli delle prove di inattivazione*

Per ogni prova sono stati eseguiti diversi controlli.

- a) Controllo dell'avvenuta neutralizzazione dell'acido peracetico e del perossido d'idrogeno

- b) Controllo dell'interferenza delle soluzioni tampone: questo controllo serve per valutare la presenza di un eventuale influenza della soluzione tampone sulla crescita batterica.
- c) Controllo della sterilità del latte: questo controllo è stato necessario per valutare la sterilità del latte in polvere utilizzato per le prove.
- d) Controllo dell'interferenza del latte: per ogni microrganismo in esame e per ogni diversa concentrazione di latte in polvere si esegue una prova, rispettando tempi e passaggi della procedura di inattivazione, senza utilizzare la soluzione disinfettante.
- e) Controllo della vitalità dei microrganismi nel biofilm formato dopo 1 o 24 ore di adesione:

## RISULTATI

### *Prove condotte in assenza di sostanze organiche*

Nelle tabelle da 1 a 6 sono riportati i risultati ottenuti sui 3 microrganismi con diverse concentrazioni di PAA e di HP a diversi tempi di contatto.

Tabella n. 1: Presenza o assenza di *L. innocua* con diverse concentrazioni di acido peracetico.

tempo (min)	6 mg/l	15 mg/l	25 mg/l	30 mg/l	50 mg/l	70 mg/l	90 mg/l
0	+	+	+	+	+	-	-
5	+	+	+	+	-	-	-
15	+	+	-	-	-	-	-

Tabella n. 2: Presenza o assenza di *L. innocua* con diverse concentrazioni di perossido di idrogeno.

tempo (min)	8 g/l	10 g/l	15 g/l	18 g/l	21 g/l	50 g/l
0	+	+	+	+	-	-
5	+	+	-	-	-	-
10	+	-	-	-	-	-

Tabella n. 3: Presenza o assenza di *S. aureus* con diverse concentrazioni di acido peracetico.

tempo (min)	2 mg/l	6 mg/l	10 mg/l	15 mg/l	20 mg/l	30 mg/l	70 mg/l	80 mg/l
0	+	+	+	+	+	+	+	-
5	+	+	+	-	-	-	-	-
15	+	-	-	-	-	-	-	-

Tabella n. 4: Presenza o assenza di *S. aureus* con diverse concentrazioni di perossido di idrogeno.

tempo (min)	8 g/l	10 g/l	15 g/l	18 g/l	21 g/l	50 g/l
0	+	+	+	+	-	-
5	+	+	-	-	-	-
15	-	-	-	-	-	-

Tabella n. 5: Presenza o assenza di *E. coli* con diverse concentrazioni di acido peracetico.

tempo (min)	2 mg/l	4 mg/l	10 mg/l	20 mg/l	25 mg/l
0	+	+	+	+	-
5	+	+	-	-	-
15	+	-	-	-	-

Tabella n. 6: Presenza o assenza di *E. coli* con diverse concentrazioni di perossido di idrogeno.

tempo (min)	0.5 g/l	1 g/l	1.5 g/l	1.8 g/l	5 g/l
0	+	+	+	+	-
5	+	+	+	-	-
15	+	+	-	-	-

Per *L. innocua* la inattivazione completa con PAA è stata ottenuta al tempo 0 con 70 mg/l; è stato peraltro riscontrato un buon andamento lineare tra numero di positività e concentrazione nell'intervallo di tempo 0-15 minuti ( $R^2= 0,93$ ,  $P= 0,001$ ); decisamente più elevata la concentrazione di HP necessaria per la completa inattivazione di *L. innocua* al tempo 0, 21g/l senza un andamento lineare significativo.

Per *S. aureus* la inattivazione completa con PAA è stata ottenuta con 80 mg/l al tempo 0; anche in questo caso è stato riscontrato un buon andamento lineare tra la positività e le concentrazioni nello stesso intervallo 0-15 minuti ( $R^2= 0,53$ ,  $P = 0,024$ ); con HP la completa inattivazione al tempo 0 è stata ottenuta con 21 g/l senza andamento lineare significativo.

*E. coli* è risultato il microrganismo più sensibile: con il PAA l'inattivazione al tempo 0 è stata raggiunta con 25 g/l e con HP con 5 g/l; in entrambi i casi è stato evidente un buon andamento lineare con  $R^2= 0,76$  per il PAA ( $P= 0,034$ ) e  $R^2=0,75$  per HP ( $P= 0,037$ ).

#### ***Prove condotte in presenza di sostanze organiche***

I risultati delle prove condotte in presenza di concentrazioni crescenti di latte in polvere sono riportati nelle tabelle 7-12.

Tabella n. 7: Presenza o assenza di *L. innocua* con diverse concentrazioni di PAA in presenza di percentuali crescenti di latte in polvere.

PAA mg/l	PAA			L1=0.25%			L2=2.5%			L3=25%		
	0	5 min	3 ore	0	5 min	3 ore	0	5 min	3 ore	0	5 min	3 ore
50	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+
80	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+
100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
130	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
200	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
230	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
300	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabella n. 8: Presenza o assenza di *L. innocua* con diverse concentrazioni di HP in presenza di percentuali crescenti di latte in polvere.

HP g/l	HP			L1=0.25%			L2=2.5%			L3=25%		
	0	5 min	3 ore	0	5 min	3 ore	0	5 min	3 ore	0	5 min	3 ore
15	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-
20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
60	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabella n. 9: Presenza o assenza di *S. aureus* con diverse concentrazioni di PAA in presenza di percentuali crescenti di latte in polvere.

PAA mg/l	PAA			L1=0.25%			L2=2.5%			L3=25%		
	0	5 min	3 ore	0	5 min	3 ore	0	5 min	3 ore	0	5 min	3 ore
50	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+
70	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
80	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
230	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
300	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Con il PAA, l'andamento delle inattivazioni per i tre microrganismi ha richiesto un deciso aumento delle concentrazioni del disinfettante per ottenere una completa assenza di crescita a tutti i tempi saggiati. Con concentrazioni di latte del 25% per *L. innocua* e *S. aureus* sono necessari 300 mg/l e per *E. coli* 580mg/l.

Decisamente diversa la situazione per HP che sembra risentire in misura minore della presenza della sostanza organica. Sia per *L. innocua* che per *S. aureus* si è osser-

Tabella n. 10: Presenza o assenza di *S. aureus* con diverse concentrazioni di HP in presenza di percentuali crescenti di latte in polvere.

HP g/l	HP			L1=0.25%			L2=2.5%			L3=25%		
	0	5 min	3 ore	0	5 min	3 ore	0	5 min	3 ore	0	5 min	3 ore
15	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-
20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
60	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabella n. 11: Presenza o assenza di *E. coli* con diverse concentrazioni di PAA in presenza di percentuali crescenti di latte in polvere.

PAA mg/l	PAA			L1=0.25%			L2=2.5%			L3=25%		
	0	5 min	3 ore	0	5 min	3 ore	0	5 min	3 ore	0	5 min	3 ore
15	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+
25	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
70	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
150	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
230	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
280	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
300	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
580	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabella n. 12: Presenza o assenza di *E. coli* con diverse concentrazioni di HP in presenza di percentuali crescenti di latte in polvere.

HP g/l	HP			L1=0.25%			L2=2.5%			L3=25%		
	0	5 min	3 ore	0	5 min	3 ore	0	5 min	3 ore	0	5 min	3 ore
1.5	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-
2.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

vata una completa inattivazione dopo 5 minuti di contatto in presenza di concentrazioni di latte dello 0,25, 2,5 e 25%, situazione del tutto sovrapponibile a quella verificatasi in assenza di latte.

Più resistente è *E. coli* la cui inattivazione è stata raggiunta dopo 3 ore di contatto.

#### **Prove sui biofilm**

Le prove sono state condotte su biofilm di 1 ora o di 24 ore di *E. coli*.

Decisamente buona l'azione del PAA con una inattivazione completa sul biofilm di 1 ora dopo 15 minuti di contatto con 10 mg/l; sul biofilm di 24 ore la concentrazione sale a 14 mg/l; tali dati sono del tutto simili a quelli ottenuti con la sospensione batterica.

Più debole l'azione del HP; per la completa inattivazione sia sul biofilm di 1 ora sia sul biofilm di 24 ore è stato necessario impiegare una concentrazione di 8 g/l, superiore a quella necessaria per l'inattivazione di *E. coli* in sospensione.

## CONSIDERAZIONI E CONCLUSIONI

### **Attività battericida dei perossidi**

Dalle prove di presenza o assenza si è evidenziato che il PAA è più efficace sui batteri Gram negativi che sui batteri Gram positivi: per determinare l'abbattimento di circa 7 unità logaritmiche al tempo 0 sono stati necessari 80 mg/l per *S. aureus* e 70 mg/l per *L. innocua* contro i 25 mg/l sufficienti per *E. coli*.

E' inoltre indubbio come, con il trascorrere del tempo, aumenti anche l'effetto del disinfettante; con 5 minuti di contatto la concentrazione minima battericida di PAA per *L. innocua* scende da 70 a 50 mg/l e a 25 mg/l con 15 minuti: riduzioni pari al 29% (tra t0 e t5) e al 64% (tra t0 e t15) rispettivamente.

L'assenza di *S. aureus*, che si verifica dopo 5 minuti con 15 mg/l, a 15 minuti si osserva con 6 mg/l; la riduzione della concentrazione battericida è del 12,5% nei primi 5 minuti di contatto (tra t0 e t5) ed addirittura del 92,5% dopo 15 minuti (tra t0 e t15).

Per *E. coli* sono sufficienti concentrazioni di PAA decisamente inferiori che diminuiscono ulteriormente con il passare del tempo, da 25 mg/l al tempo 0 si passa a 10 mg/l a 5 minuti ed a 4 mg/l a 15 minuti: la concentrazione di inattivazione cala quindi del 60% nel primo caso e dell'84% nel secondo caso .

Andamento simile ha mostrato l'HP, dopo 5 minuti di contatto, la concentrazione per eliminare *L. innocua* e *S. aureus* scende da 21 g/l a 15 g/l ed addirittura a 8 g/l dopo 15 minuti. Si tratta di diminuzioni rispettivamente del 28,5% e del 62%. Si riscontra l'assenza di *E. coli* dopo 5 minuti di contatto già con 1,8 g/l di HP e dopo 15 minuti con 1,5 g/l, abbassamenti del 64% tra 0 e 5 minuti e del 70% tra 0 e 15 minuti.

Dai risultati ottenuti si può notare la maggiore attività microbica dell'acido peracetico rispetto a quella del perossido d'idrogeno: per una riduzione di 7 unità logaritmiche al tempo 0 sia di *L. innocua* che di *S. aureus* si sono impiegati 21 g/l di HP contro 70-80 mg/l di PAA; lo stesso avviene per *E. coli* per il quale si sono dovuti usare 5 g/l di HP contro i 25 mg/l di PAA.

Da rilevare anche che esiste un intervallo di concentrazioni all'interno del quale i risultati sono simili e il loro incremento non porta ad un miglioramento dell'effetto microbica.

### **Attività dei perossidi in presenza di sostanze organiche**

Sia il PAA sia l'HP stati testati con aggiunta di latte in polvere, a concentrazioni dello 0,25% (L1), del 2,5% (L2) e del 25% (L3).

Dai risultati ottenuti emerge che l'azione del PAA viene notevolmente influenza-

ta dalla presenza di sostanze organiche. L'aumento del suo effetto col passare del tempo resta comunque inalterato, ma le concentrazioni di utilizzazione diventano più elevate in proporzione alle aggiunte di latte eseguite. Per l'inattivazione della *L. innocua* a 5 minuti infatti bastano 50 mg/l di PAA, che però non sono sufficienti in presenza sia di L1 che di L2, con i quali sono necessari 80 mg/l. Il latte allo 0,25% è comunque meno influente, infatti a questa concentrazione l'inattivazione si ottiene anche al tempo 0, mentre con L2 le piastre sono ancora positive.

L'aggiunta di L3 limita fortemente l'azione del PAA e per abbattere il microrganismo bisogna salire fino a 300 mg/l.

*S. aureus* si comporta approssimativamente come *L. innocua*; su entrambi i microrganismi sono state testate, con poche eccezioni, le stesse concentrazioni. Anche in questo caso per l'eliminazione del microrganismo in presenza di L1 e di L3 a t5 si deve passare da 50 mg/l, necessari in assenza di latte, a, rispettivamente, 70 mg/l e 300 mg/l. L'unica differenza tra i due batteri si nota in presenza di L2; in que-

Tabella n. 13: Concentrazioni di PAA utilizzate per l'inattivazione del biofilm.

<b>PAA mg/l</b>	<b>Biofilm 1h</b>	<b>Biofilm 24h</b>
<b>0</b>	+	+
<b>5</b>	+	+
<b>10</b>	-	+
<b>14</b>	-	-
<b>20</b>	-	-
<b>21</b>	-	-
<b>28</b>	-	-
<b>30</b>	-	-
<b>40</b>	-	-
<b>50</b>	-	-

Tabella n. 14: Concentrazioni di HP utilizzate per l'inattivazione del biofilm.

<b>HP g/l</b>	<b>Biofilm 1h</b>	<b>Biofilm 24h</b>
<b>0</b>	+	+
<b>0.6</b>	+	+
<b>1</b>	+	+
<b>2</b>	+	+
<b>3</b>	+	+
<b>4</b>	+	+
<b>8</b>	+	+/-
<b>10</b>	-	-
<b>12</b>	-	-
<b>14</b>	-	-
<b>20</b>	-	-

ste condizioni infatti *S. aureus* viene inattivato con 70 mg/l a t0, mentre per avere lo stesso effetto su *L. innocua* occorrono circa 100 mg/l.

Le prove condotte su *E. coli* hanno dato risultati diversi: 15 mg/l di PAA sono serviti per abbattere la carica batterica a t5, 25 mg/l per lo stesso effetto con L1 e 70 mg/l con L2; quest'ultima concentrazione è ben superiore a quelle impiegate sempre con lo stesso microrganismo nelle prove in assenza di sostanze organiche e si avvicina molto a quelle usate per i Gram positivi. E' interessante come in presenza di L3 per ottenere l'eliminazione della carica microbica sia stato necessario impiegare 580 mg/l di PAA, si tratta quindi di un incremento notevole della minima concentrazione battericida per l'inattivazione al tempo 0 rispetto a quella utilizzata in assenza di latte; questa concentrazione supera notevolmente quelle usate per gli altri due batteri, che invece in assenza di latte si erano dimostrati meno sensibili all'azione del disinfettante.

Eseguito queste prove, ad ogni concentrazione e ad ogni intervallo di tempo è stata eseguita una titolazione iodometrica; dai calcoli sull'ossigeno liberato si è potuto notare che il consumo di ossidante cresce all'aumentare della percentuale di latte aggiunto e col trascorrere del tempo di contatto, mentre diminuisce all'aumentare della concentrazione di acido peracetico impiegato.

I risultati ottenuti con il perossido d'idrogeno indicano che l'azione di questo composto non è particolarmente influenzata dalla presenza di sostanze organiche. Si nota infatti che *L. innocua* e *S. aureus* vengono inattivati con 15 g/l di HP a 5 minuti e con 20 g/l al tempo 0 sia senza aggiunta di latte sia in presenza di L1, L2 ed L3. La carica batterica di *E. coli* viene azzerata con 1,5 g/l in 3 ore di contatto, ma già con 2 g/l è abbattuta al tempo 0 indifferentemente dalla presenza o meno di materiale organico.

Le concentrazioni di utilizzo dell'HP restano comunque molto superiori a quelle di PAA, ma, diversamente da questo, il suo effetto non sembra risentire delle eventuali condizioni di sporcizia.

Essendo nota l'etichetta nutrizionale del prodotto si possono ricondurre le percentuali di latte aggiunto a valori precisi di proteine: L1=0.03% di proteine, L2=0,3% e L3=3%, valori già riportati in letteratura per la simulazione di condizioni di sporcizia (2).

L'influenza del carico proteico è già stata provata ed inoltre si è dimostrato come l'influenza delle proteine cambi molto a seconda della categoria di disinfettante usato e del tipo di microrganismo (14).

Dai risultati ottenuti dalle inattivazioni con PAA si è calcolato il Protein Load Factor (PLF) (Tab.15), rapporto tra la concentrazione minima battericida impiegata

Tabella n. 15: Valori di PLF con diverse percentuali di proteine a due tempi di contatto.

Proteine %	<i>L. innocua</i>		<i>S. aureus</i>		<i>E. coli</i>	
	0	3ore	0	3ore	0	3ore
<b>0.03%</b>	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
<b>0.3%</b>	1.25	1.60	1.00	1.40	2.80	4.67
<b>3%</b>	3.75	6.00	4.29	6.00	23.20	38.67

in condizioni di sporco e quella in condizioni di pulizia, seguendo il modello proposto da Bessems (1998), per avere una misura dell'influenza del carico di proteine, cioè dal carico di sostanze organiche sull'attività del disinfettante (14).

Si può notare che con L1 il PLF è uguale a 1 sia a t0 che a t3 con tutti e tre i microrganismi, l'apporto dello 0.03% di proteine non sembra influenzare l'azione dell'acido peracetico. Con l'aggiunta di L2 con *L. innocua* e *S. aureus* il PLF aumenta di poco soprattutto dopo 3 ore di contatto mantenendosi comunque al di sotto di 1,6, mentre con *E. coli* il PLF è uguale a 2,8 a t0 e a 4,67 a t3, quindi le concentrazioni da utilizzare devono essere notevolmente aumentate con un apporto dello 0,3% di proteine.

La presenza del 3% di proteine influisce ulteriormente sulle concentrazioni di disinfettante da usare con un aumento per *L. innocua* e *S. aureus* di almeno o 5 volte; per *E. coli* gli incrementi di concentrazione sono decisamente superiori, il PLF è uguale a 23,2 al tempo 0 e a 38,67 a 3 ore.

L'aumento delle concentrazioni di disinfettante (e di conseguenza del PLF) sembra essere correlato linearmente con l'incremento delle percentuali di latte addizionato ( $R^2$  compresi tra 99.92% e 100%).

È interessante notare inoltre che la più alta percentuale di proteine sembra annullare l'effetto legato al tempo di contatto; infatti la concentrazione minima battericida è risultata uguale sia al tempo 0 e al tempo 3 ore, diversamente da quanto rilevato in assenza di latte e con le percentuali più basse, anche se non è da escludere che tale situazione possa essere dovuta alla elevata variabilità delle concentrazioni testate.

Per il perossido d'idrogeno il PLF è risultato uguale a 1 a qualsiasi concentrazione di proteine e con qualsiasi microrganismo, confermando la non influenza del carico organico sull'attività microbica.

Per una buona disinfezione è quindi necessario condurre le operazioni di pulizia preliminare nel modo più adeguato ed accurato possibile, in modo da limitare l'apporto di sostanze organiche, che a bassi livelli non risultano comunque compromettere l'effetto dell'acido peracetico. L'utilizzo di questo composto, nonostante sia così sensibile alla presenza di sporcizia, sembra sempre preferibile considerate le minori concentrazioni minime battericide rispetto a quelle richieste per il perossido d'idrogeno.

### ***Attività dei perossidi sul biofilm***

Questo studio, ancora in fase preliminare, è stato condotto per valutare l'efficacia dei due perossidi nell'inattivare biofilm formati da *E. coli* su coupon di acciaio inox.

Le concentrazioni di 10 mg/l e 14 mg/l di PAA, rispettivamente impiegate nelle prove per eliminare il biofilm formatosi in un'ora e in 24 ore, sono risultate di poco superiori a quelle utilizzate nelle prove sui batteri in sospensione a 5 e a 15 minuti, confermando che la presenza del coupon non crea interferenze con il PAA.

L'HP all'1% è necessario, invece, per l'inattivazione sia del biofilm di un'ora sia di quello di 24 ore; lo 0,8% può essere considerata la concentrazione limite per eliminare il biofilm di 24 ore. Con questo disinfettante la minima concentrazione battericida è più elevata di quella per le prove di presenza o assenza, nelle quali con 5 g/l si era raggiunto l'abbattimento totale al tempo 0.

Dai risultati ottenuti l'acido peracetico mostra avere una migliore azione sui biofilm rispetto al perossido d'idrogeno che, non solo deve essere utilizzato a concentrazioni superiori, ma anche a concentrazioni ancora più elevate rispetto alle prove condotte su sospensioni batteriche secondo gli European Suspension Test, ai quali normalmente si fa riferimento per la scelta delle quantità di utilizzo dei disinfettanti; mentre positiva sembra la simile efficacia dell'HP applicato sui biofilm formati in tempi diversi.

Le minime concentrazioni battericida impiegate su biofilm di 1 e di 24 ore di contatto non hanno valori significativamente diversi.

I perossidi hanno dimostrato come, in assenza di sostanze organiche, la loro efficacia aumenti con il tempo di contatto e come sia diversa la loro attività su batteri Gram positivi e Gram negativi, questi ultimi risultano infatti molto più sensibili dei primi, come già riportato in letteratura (3). Sono consigliate quindi concentrazioni battericida intorno ai 100 mg/l per i Gram positivi, da noi testati, e molto inferiori (30 mg/l) per i Gram negativi, come *E. coli*.

Se si opera in condizioni di "sporcizia", condizioni simulate in laboratorio aggiungendo proteine a diverse percentuali, si verifica la minore efficacia dell'acido peracetico: con l'aggiunta di percentuali crescenti di latte, la concentrazione minima battericida deve essere aumentata notevolmente, addirittura di 38 volte per eliminare *E. coli*, che si è rilevato molto più resistente che in assenza di latte. Si nota inoltre con la maggiore concentrazione di proteine una minore rilevanza "dell'effetto tempo di contatto": il materiale organico sembra infatti consumare il potere ossidante del PAA nel tempo impedendogli di inattivare il microrganismo, per cui se questo è presente a t0 lo sarà anche a t3. Ciò si osserva fino ad una concentrazione limite oltre la quale si ha già l'abbattimento a t0. Questo risultato comunque potrebbe anche dipendere dagli scarti tra le concentrazioni testate, piuttosto elevati.

In un'ulteriore simulazione delle condizioni che si possono incontrare in industria, come la formazione di patine all'interno di impianti ed attrezzature, è emersa la buona attività microbica, già riportata in letteratura (21), dell'acido peracetico su tali superfici: per eliminare il biofilm sono state utilizzate le stesse concentrazioni di PAA delle prove su sospensioni batteriche, mentre con HP si è dovuto ricorrere a dosaggi del disinfettante decisamente superiori.

Sarà interessante cercare di determinare anche l'efficacia dei perossidi su altri microrganismi, che frequentemente si ritrovano come contaminanti nelle industrie alimentari correlati alla formazione di biofilm, per migliorare la fase di disinfezione, operazione indispensabile in questo campo per ottenere prodotti commerciali dalle buone qualità microbiologiche. Viene comunque confermato, dagli studi finora svolti, la necessità di fare precedere alla disinfezione una idonea fase di pulizia in modo da ridurre il dosaggio del disinfettante. Inoltre è ribadita, in particolare, in assenza di sporco e su biofilm, l'efficacia dei composti perossidi, dei quali è nota la minore tossicità rispetto ai prodotti a base di cloro che, pur essendo maggiormente attivi, possono determinare la formazione di sottoprodotti tossici.

**Parole chiave:** Acido Peracetico, Idrogeno Perossido, Biofilm

**Key words:** Peracetic Acid, Hydrogen Peroxide, Biofilm

**Stichwörter:** Peressigsäure, Wasserstoffperoxid, Biofilm

**RIASSUNTO** - E' stato condotto uno studio sulla attività battericida dell'acido peracetico e del perossido di idrogeno nei confronti di *L. innocua*, *S. aureus* ed *E. coli*. Le prove sono state condotte su sospensioni batteriche in assenza di sostanze organiche e comparativamente in presenza di concentrazioni crescenti di sostanze organiche, latte in polvere allo 0.025, 0.25 e 2.5%. I risultati ottenuti hanno messo in evidenza un netto incremento delle concentrazioni di acido peracetico necessarie per l'inattivazione dei tre microrganismi saggiati in presenza della più alta percentuale di latte, da 300 a 580 mg/l. Nessuna particolare influenza del carico organico sull'azione del perossido di idrogeno.

In via del tutto preliminare sono state effettuate prove di inattivazione di biofilm batterici di *E.coli* formati dopo 1 e 24 ore di contatto su piccoli "coupon" di acciaio. L'acido peracetico ha presentato sui biofilm la stessa attività battericida evidenziata sui batteri in sospensione mentre il perossido di idrogeno è risultato molto meno efficace.

**SUMMARY** - It was carried out a study on peracetic acid and hydrogen peroxide bactericidal activity versus *L. innocua*, *S. aureus* and *E. coli*. The trials were carried out on bacteric suspensions free of organic substances and comparatively in presence of organic substances increasing concentrations, powdered milk at 0.025, 0.25 and 2.5%. The obtained results pointed out a clear increase of the peracetic acid concentrations necessary to the inactivation of the three microorganisms tested in presence of the highest percentage of milk, 300 to 580 mg/l. No particular influence of the organic load on the hydrogen peroxide action. As quite preliminarily were carried out inactivation trials of bacteric biofilms of *E. coli* formed after 1 and 24 contact hours on little steel "coupons". The peracetic acid showed on the biofilms the same bactericidal activity pointed out on the bacteria in suspension meanwhile the hydrogen peroxide resulted much less effective.

**ZUSAMMENFASSUNG** - Die bakterizide Wirkung von Peressigsäure und Wasserstoffperoxid gegen *L. innocua*, *S. aureus* und *E. coli* wurde geforscht. Die Untersuchungen wurden auf Bakteriensuspensionen ohne organischen Stoffen und vergleichend mit steigenden Konzentrationen von organischen Stoffen - Milchpulver zu 0.025, 0.25 und 2.5% - durchgeführt. Aus den Ergebnissen stellte sich heraus, dass die für die Inaktivierung der 3 untersuchten Mikroorganismen erforderliche Peressigsäurekonzentration mit der höchsten Milchkonzentration entschieden steigt - von 300 auf 580 mg/l. Kein besonderer Einfluss der organischen Konzentration auf die Wirksamkeit von Wasserstoffperoxid wurde festgestellt. Einleitend wurden Inaktivierungstests von *E.coli* Bakterienfilmen durchgeführt, die nach 1 bzw. 24 Stunden Berührung auf kleinen Stahl-Probepplatten sich geformt hatten. Peressigsäure hatte auf die Biofilmen dieselbe bakterizide Wirkung wie auf die Bakterien in Suspension, während Wasserstoffperoxid zeigte sich deutlich weniger wirksam.

## BIBLIOGRAFIA

1. BAKKE R., TRULEAR M.G., ROBINSON J.A., CHARACKLIS W.G. (1984): Activity of *Pseudomonas aeruginosa* in biofilms: steady state. *Biotechnol. Bioeng.* **26**:1418-1424.
2. BESSEMS E. (1998): The effect of practical conditions on the efficacy of disinfectants. *International Biodeteretion & Biodegradation* **41**:177-183.
3. BLOCK SS (1991): Disinfection, sterilization and preservation. Ed. Lea and Febiger, Philadelphia-London.
4. CAVADORE A, MASSA G., BIENTINESI P., MARTIGNONI P. (1993): Acido peracetico-Oxymaster: disinfezione acque reflue urbane di un depuratore cittadino – esperienze industriali all’impianto di Cesena. *Ingegneria Sanitaria-Ambientale* 23-7.
5. CHARACKLIS W.G., MARSHALL K.C. (1990): *Biofilms*. John Wiley, New York, USA.
6. CRIADO M.T., SUAREZ B., FERREIROS C.M. (1994): The importance of bacterial adhesion in the dairy industry. *Food Technol.* **48**:123-126.
7. DE BEER D., SRINISVAN R., STEWART S. (1994): Direct measurement of chlorine penetration into biofilms during disinfection. *Appl. Environ. Microbiol. Hyg. B* **183**:549-563.
8. DEVANTII R., WONG A.C.L. (1995). Influence of culture conditions on biofilm formation by *Echerichia coli* O157:H7. *Int. Food Microbiol.*, **26**, 147-164.
9. DICKSON J.S., KOOHMARAIE M. (1989): Cell surface charge characteristics and their relationship to bacterial attachment to meat surfaces. *Appl. Environ. Microbiol.* **55**:832-836.
10. DYEHDALA G.R. (1988): New Hydrogen peroxide-peroxyacetic acid disinfectant. Proc. 4<sup>th</sup> Conf. Prog. Chem. Disinfection, Binghamton, NY, 315-42. In Block S.S. (1991): Disinfection, sterilization and preservation. Ed. 1991, Lea and Febiger, Philadelphia-London.
11. FARBER J.M., PETERKIN P.I. (1991). *Listeria monocytogenes* a food borne pathogen. *Microbiol. Rev.*, **55**:476-571.
12. FORSYTE S.J., HAYES P.R. (1998): Food hygiene microbiology and HACCP. Chapman & Hall food science book, Aspen publisher inc., Gaithersburg, Maryland.
13. GANESH KUMAR C., ANAND S.K. (1998): Significance of microbial biofilms in food industry: a review. *International Journal of Food Microbiology* **42**:9-27.
14. HOLTON J., NYE P., McDONALD V. (1994): Efficacy of selected disinfectants against mycobacteria and cryptosporida. *J. Hosp. Infect.* **27**(2) :105-115.
15. HOOD S.H. ZOTTOLA E.A. (1997): Growth media and surface conitioning influence the adherence of *Pseudomonas fragi*, *Salmonella typhimurium* and *Listeria monocytogenes* cells to stainless steel. . *J. Food Prot.* **60**:1034-1037.
16. JONES G.W., ISAACSON R.E. (1983): Proteinaceous bacterial adhesins and their receptors. *CRC Crit. Rev. Microbiol.* **10**:229-260.

17. Kumar C.G., Singh R.S. (1994). *Yersinia enterocolitica*, as an emerging foodborne pathogen – a review. *Indian J. Dairy Sci.*, **47**, 537-544.
18. MARSHALL K.C. (1992): Biofilms: an overview of bacteria adhesion, activity and control at surfaces. *Am. Soc. Microbiol. News* **58**:202-207.
19. MARSHALL K.C., STOUT R., MITCHELL R. (1971): Mechanisms of the initial events in the sorption of marine bacteria to surfaces. *J. Gen. Microbiol.* **68**:337-348.
20. MELO L.F., BOTT T.R., FLETCHER M., CAPDEVILLE B. (1992): Biofilms: Science and Technology. In: NATO ASI series E, Kluwer Academic Press, Dordrecht, The Netherlands.
21. ROSSONI E.M.M., GAYLARDE C.C. (2000): Comparison of sodium hypochlorite and peracetic acid as sanitizing agents for stainless steel food processing surfaces using epifluorescence microscopy. *International Journal of Food microbiology* **61**:81-85.
22. SAPERS GM. (1999): Research on decontamination of apples by washing with detergents and sanitizing agents. FDA/Center for Food Safety & Applied Nutrition.
23. SIEBEL M.A., CHARACKLIS W.G. (1991): Observations of binary population biofilms. *Biotechnol. Bioeng.* **37**:778-789.
24. SPEERS J.G.S., GILMOUR A. (1985): The influence of milk and milk components on the attachment of bacteria to farm dairy equipment surfaces. *J. Appl. Bacteriol.* **59**:325-332.
25. Stern N.J., Kazmi S.U. (1989). *Campylobacter jejuni*. In: Doyle M.P. (Ed.), *Foodborne Bacterial Pathogens*. Marcel Dekker, New York, pp.71-110.

## **PROSPETTIVE DI IMPIEGO DEL BLINK REFLEX TEST E DEL TEST DI STIMOLAZIONE DIRETTA DEL NERVO FACIALE NEL CANE**

E. Bianchi<sup>1</sup>, D. Callegari<sup>1</sup>, M. Dondi<sup>1</sup>

### *Premessa*

Gli esami di elettro-neurofisiologia stanno acquisendo un ruolo sempre più importante nella clinica neurologica veterinaria. Questi strumenti di indagine, al contrario della maggior parte degli altri esami collaterali a disposizione del neurologo, consentono di verificare direttamente ed in modo obiettivo e quantitativo la funzionalità della struttura nervosa studiata. Nello studio delle patologie dell'encefalo e dei nervi cranici, alcuni di questi esami di elettro-neurofisiologia vengono impiegati in modo ormai routinario in molti centri di riferimento per la neurologia veterinaria, in particolare l'elettroretinografia (ERG) nell'identificazione delle patologie retiniche, i potenziali evocati acustici (BAER) nei deficit dell'VIII nervo cranico, l'elettroencefalografia (EEG) nelle patologie corticali, e l'elettromiografia (EMG) nello studio dei deficit motori dei nervi cranici. Tra i test "emergenti" per l'importanza e la frequenza delle patologie che permettono di indagare vi sono senz'altro il Blink Reflex test e il test di Stimolazione Diretta del nervo facciale.

I primi studi riguardanti l'utilizzo di questi esami nel cane risalgono a più di quindici anni fa (Whalen, 1985), ma solo di recente si è iniziato a verificare le possibilità di un loro effettivo impiego clinico (Anor et al., 2000). Questi ultimi risultati sono molto incoraggianti, e un'ulteriore sprone a proseguire su questo filone di ricerca è rappresentato dal diffuso impiego clinico di questi test in medicina umana (Kimura, 1989; Colletti e Sittoni, 1993), che è accompagnato da un'attività di ricerca e sperimentazione continua, basata soprattutto sull'impiego di modelli animali (Tamai et al., 1986; Inagaki et al., 1989; Salerno et al., 1990; LeDoux, 1997).

Il Blink Reflex test è un esame impiegato nello studio delle patologie a carico delle strutture nervose che compongono l'arco riflesso trigemino-reticolo-faciale. Le vie coinvolte in questo test sono le stesse del riflesso corneale valutato nel corso dell'esame neurologico; il vantaggio del blink reflex sta nell'obiettività e nella possibilità di quantificare deficit anche molto lievi. A questo esame si associa sempre il test di Stimolazione Diretta del VII nervo cranico. Questi esami rappresentano un valido ausilio nello studio delle patologie del nervo trigemino, del nervo facciale e del tronco encefalico.

---

<sup>1</sup> Dipartimento di Salute Animale – Sezione di Clinica Medica Veterinaria – Università degli Studi di Parma

### *Tecnica di esecuzione*

Gli animali da esaminare vengono solitamente sedati per minimizzare il disturbo elettrico legato alla contrazione muscolare volontaria; nella nostra clinica utilizziamo abitualmente a questo scopo la medetomidina (Domitor®), un agonista alfa-2 adrenergico antagonizzabile mediante impiego di atipamezolo (Antisedan®).

Per l'esecuzione del Blink Reflex test si impiegano elettrodi di stimolazione ad ago posti nel sottocute in prossimità del forame sopraorbitario o di quello infraorbitario: fori di penetrazione nel cranio delle rispettive branche del nervo trigemino (nervo sopraorbitario e nervo infraorbitario). I nervi trigemini dei due lati della faccia vengono stimolati separatamente. La registrazione viene praticata bilateralmente a livello di un muscolo innervato dal nervo facciale; gli elettrodi ad ago di registrazione vengono posizionati solitamente nel muscolo orbicolare dell'occhio, a livello della palpebra inferiore (elettrodo esplorante) e in corrispondenza della tempia, o sulla faccia laterale del naso (elettrodo di riferimento). A questi elettrodi va aggiunto l'elettrodo di terra che può essere posizionato indifferentemente sulla faccia dorsale del naso, sulla tempia o sulla nuca (vedi figura 1).

Lo stimolo elettrico è rappresentato da onde quadre di 0,1 ms, si utilizzano intensità crescenti fino ad avere una risposta massima pressoché stabile. Solitamente sono necessarie almeno otto stimolazioni per ogni lato per ottenere il tracciato desiderato e verificarne la ripetibilità. La registrazione viene effettuata bilateralmente per ogni stimolazione.

Il test di Stimolazione Diretta del nervo facciale si effettua posizionando gli elettrodi di stimolazione in corrispondenza del forame stilomastoideo. Quindi si stimola il nervo facciale nel punto in cui esce dall'osso petroso. Gli elettrodi di registrazione vengono lasciati negli stessi punti utilizzati per il Blink Reflex test ed il tipo di stimolo è identico al precedente. E' necessario solitamente effettuare tre, quattro stimolazioni per lato per verificare la ripetibilità del potenziale registrato. Il tempo necessario per eseguire entrambi questi esami bilateralmente su un cane è di circa trenta minuti.

Confrontando le registrazioni ottenute da tutti e due i lati per via riflessa (Blink Reflex) e per stimolazione diretta (Stimolazione del nervo facciale) è possibile stabilire con notevole precisione la sede e il tipo di lesione (assonale o demielinizzante).

### *Interpretazione del tracciato*

Durante l'esecuzione del Blink Reflex test si effettua la stimolazione, prima da un lato, poi dall'altro, di una branca del nervo trigemino (solitamente il nervo sovraorbitario o quello infraorbitario). Questo stimolo determina, in un soggetto normale, l'attivazione riflessa del muscolo orbicolare di entrambi gli occhi. Gli elettrodi posti in questi muscoli registrano, nel muscolo orbicolare ipsilaterale rispetto alla stimolazione, due risposte contrattili, denominate R1 ed R2, mentre nel muscolo orbicolare controlaterale, registrano solo una risposta contrattile tardiva (R2) (vedi figura 2). Il potenziale R1 deriva da un semplice riflesso pontino unilaterale, mentre quello tardivo R2 è conseguenza di un riflesso multisinaptico che interessa bilateral-



Figura 1 – Posizionamento degli elettrodi per la registrazione del Blink Reflex. Stimolazione del nervo sopraorbitario di sinistra e registrazione bilaterale a livello della palpebra inferiore (muscolo orbicolare dell'occhio). L'elettrodo di terra non è visibile in quanto posizionato in corrispondenza della nuca.

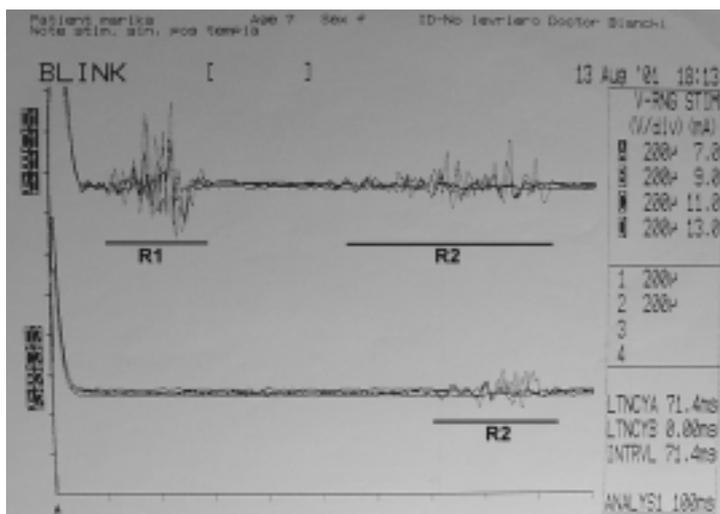


Figura 2 – Blink Reflex test, esempio di tracciato normale. In alto sono evidenziate la risposta precoce (R1) e tardiva (R2) registrate ipsilateralmente rispetto alla stimolazione. In basso è evidenziata la risposta tardiva (R2) registrata controlateralmente rispetto alla stimolazione.

mente anche la formazione reticolare del tronco encefalico (Kimura 1989; Anor et al., 2000).

Il test di Stimolazione Diretta del nervo faciale consiste nello stimolare elettricamente il nervo nel punto in cui esce dal cranio (forame stilomastoideo) e nel registrare l'attività contrattile di uno dei muscoli da esso innervati (solitamente il muscolo orbicolare dell'occhio). Questa attività contrattile va a costituire sul tracciato la cosiddetta onda D (vedi figura 3).

I parametri presi in considerazione nell'interpretazione clinica di questi tracciati sono le latenze assolute delle onde (R1, R2 e D), il rapporto tra la latenza di R1 e quella di D (R1/D) e il rapporto tra le ampiezze dei potenziali D dei due lati. La latenza di un potenziale è il tempo che intercorre tra lo stimolo e la deflessione iniziale del potenziale stesso, e corrisponde alla massima velocità di conduzione lungo le strutture coinvolte nell'esame. Un aumento della latenza di un'onda è solitamente conseguenza di una lesione demielinizante. L'ampiezza di un'onda è la differenza di voltaggio tra due punti dell'onda stessa, solitamente si misura tra il picco dell'onda e la base (linea isoelettrica). La misurazione dell'ampiezza dell'onda D permette di valutare l'entità del danno assonale del nervo faciale. Dal momento che però l'ampiezza di D varia molto da un soggetto all'altro e al variare dell'intensità di stimolazione, al contrario di quanto accade per la latenza, è sempre necessario confrontarla con quella dell'altro lato. Una riduzione della metà dell'ampiezza dell'onda D tra il lato malato e quello normale dello stesso soggetto dopo stimolazioni sopramassimali (cioè di intensità maggiore rispetto allo stimolo che determina la comparsa di un'onda D di ampiezza massima) è indicativa di una degenerazione assonale della porzione distale del nervo faciale del lato colpito (Kimura, 1989).

### *Indicazioni*

In neurologia veterinaria l'impiego combinato di questi due esami può essere di notevole aiuto per stabilire con precisione la sede, la natura e l'entità di alcuni deficit dei nervi cranici e dell'encefalo. Se questi test non permettono da soli di raggiungere una diagnosi eziologia, forniscono informazione che possono essere di fondamentale importanza ai fini diagnostici e prognostici. Le patologie neurologiche nelle quali trovano impiego clinico sono le paralisi del nervo faciale (VII nervo cranico), le paralisi del nervo trigemino (V nervo cranico) e le lesioni del tronco encefalico. Si tratta quindi di neuropatie di frequente riscontro nella pratica clinica.

Il nervo faciale origina dai nuclei faciali del tronco encefalico ed entra nell'osso petroso a livello del meato acustico interno. Dopo aver attraversato l'osso petroso passando vicino all'orecchio medio, fuoriesce dal cranio a livello del forame stilomastoideo per andare ad innervare i muscoli dell'espressione facciale. Dal punto di vista clinico si riconoscono due forme di deficit di questo nervo: lo spasmo e la paralisi del facciale. Lo spasmo del facciale è una sindrome abbastanza rara nel cane dovuta ad un'irritazione del nervo o a lesioni dei nuclei faciali. I segni clinici possono comprendere: blefarospasmo, innalzamento dell'orecchio, deviazione del naso verso il lato colpito ed innalzamento del labbro superiore (vedi figura 4). La paralisi del facciale è un'evenienza di frequente riscontro nella clinica dei piccoli animali. E' dovuta a neuriti e a lesioni del nervo o a danni dei nuclei faciali. I segni clinici più

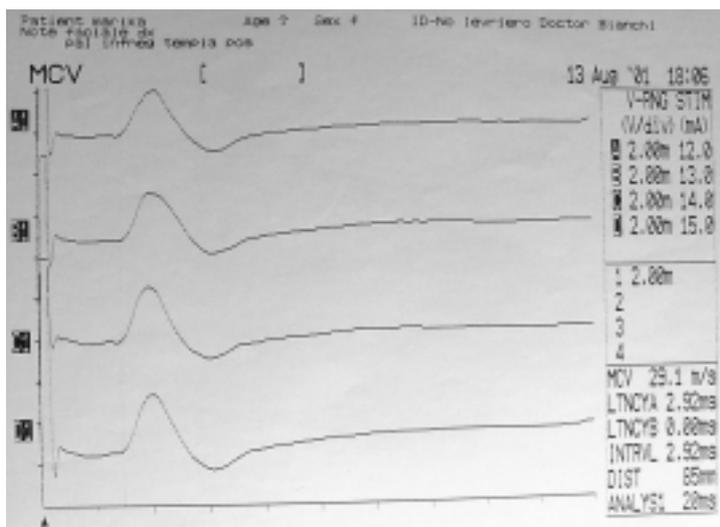


Figura 3 – Test di Stimolazione Diretta del nervo faciale, esempio di tracciato normale. Sono state effettuate quattro registrazioni per verificare la ripetibilità dell’onda D.



Figura 4 – Caso di spasmo del faciale di destra in un Setter inglese di 5 anni con otite media-interna destra cronica. Si evidenziano blefarospasmo, innalzamento del labbro e deviazione del naso verso il lato colpito.

comuni sono: impossibilità di chiudere le palpebre, ptosi dei labbri e dell'orecchio ipsilaterale e deviazione del naso verso il lato sano (vedi figura 5). Le cause di queste due forme sono le stesse, talvolta anzi lo spasmo del faciale può evolvere a paralisi. Nella diagnosi differenziale bisogna includere otiti medie-interne, traumi, ipotiroidismo, neuriti da Herpes virus, polineuropatie e forme idiopatiche, sovrapponibili alla paralisi di Bell descritta nell'uomo (Oliver et al., 1997).

L'interpretazione del Blink Reflex test e del test di Stimolazione Diretta del nervo faciale permette di stabilire con precisione la sede, l'entità e il tipo di danno al nervo. Se è colpita la porzione prossimale intraossea del nervo avremo un aumento delle latenze di R1 ed R2 ipsilaterali, con latenze normali di R2 controlaterale e di D, e quindi un rapporto R1/D aumentato (vedi tabella 1). Se invece è colpita la porzione distale extraossea del nervo avremo sempre un aumento delle latenze di R1 ed R2 ipsilaterali, con latenza di R2 controlaterale normale, ma la latenza di D sarà anch'essa aumentata, e quindi il rapporto R1/D sarà diminuito (vedi tabella 1). Una valutazione dell'entità e del tipo di lesione è possibile grazie allo studio delle onde D. Se l'onda D del lato colpito presenta una latenza aumentata possiamo affermare che vi è stata una lesione demielinizante della porzione distale del nervo. Se l'onda D del lato colpito si presenta di ampiezza ridotta rispetto a quella del lato normale si è avuto un danno assonale della porzione distale del nervo. Queste indicazioni possono essere sfruttate anche a fini prognostici. In medicina umana si ritiene infatti che una riduzione di ampiezza dell'onda D del lato colpito rispetto al lato sano di più del 75% rappresenti un elemento prognostico sfavorevole per quanto riguarda le possibilità di un recupero funzionale del nervo (Anor et al., 2000).

Il nervo trigemino si compone di fibre motorie e sensitive, le prime innervano i muscoli masticatori, le seconde forniscono l'innervazione sensitiva della faccia. I nuclei del trigemino sono localizzati nel tronco encefalico e nei segmenti midollari cervicali craniali. I deficit di questo nervo possono interessare entrambe o solo una delle componenti del trigemino. Clinicamente si distinguono tre forme: la paralisi mandibolare, l'iperestesia della faccia e l'ipoestesia/anestesia della faccia. La prima forma è la più frequente, è dovuta alla paralisi della componente motoria del nervo ed è caratterizzata, rispettivamente nella forma monolaterale e in quella bilaterale, dalla riduzione ipsilaterale del tono dei muscoli o dall'impossibilità di chiudere la bocca (figura 6). Per quanto riguarda le alterazioni della sensibilità facciale: iperestesia ed ipoestesia/anestesia sono caratterizzate rispettivamente da iperreattività in risposta agli stimoli tattili con talvolta presenza di escoriazioni autoindotte la prima, e ridotta o assente sensibilità anche a stimoli dolorifici di notevole intensità la seconda. I deficit motori e sensoriali possono coesistere. Spesso non si riescono ad individuare le cause di questi deficit del nervo trigemino; anche in queste forme, comunque, vengono chiamati in causa eventi traumatici, infiammazioni contigue, ipotiroidismo, neuriti virali, polineuriti etc. (Oliver et al., 1997).

Il Blink Reflex test ed il test di Stimolazione Diretta del faciale vengono utilizzati per evidenziare in modo obiettivo i deficit della componente sensitiva del trigemino. In questi casi infatti si avrà un aumento delle latenze di R1 ed R2 ipsilaterali e di R2 controlaterale, con una latenza di D normale, e quindi con un rapporto R1/D aumentato (tabella 1). Nel caso di lesioni monolaterali complete della componente sensitiva non si registrerà nessun potenziale né ipsi né controlateralmente, mentre



Figura 5 – Caso di paralisi del facciale di destra in un Boxer di 7 anni con sospetta neoplasia del tronco encefalico. Si evidenziano ampliamento della rima palpebrale, ptosi dei labbri ipsilaterali e lieve deviazione del filtro nasale verso il lato sano.



Figura 6 – Caso di paralisi mandibolare idiopatica in un Meticcio di 10 anni. Si evidenzia la ptosi della mandibola ed il colico di saliva dalla bocca.

l'onda D sarà normale, così come le onde R1, R2 e D determinate dalla stimolazione dei nervi dell'altro lato della faccia (Anor et al., 2000, Kimura, 1989). Per investigare i deficit della componente motoria del trigemino lo strumento diagnostico più utile è l'elettromiografia ad ago (Oliver et al., 1989).

Il tronco encefalico è una struttura nervosa molto complessa che è costituita da numerosi nuclei, tra cui quelli di molti nervi cranici, e vie nervose. Nella diagnosi delle lesioni di questa struttura trovano impiego, oltre alle tecniche di diagnostica per immagini più sofisticate, tomografia assiale computerizzata (TAC) e risonanza magnetica (RMN), anche il Blink Reflex test e il test di Stimolazione Diretta del faciale. Questo è vero soprattutto per le lesioni del tronco encefalico che determinano deficit del V e VII nervo cranico. Un altro esame che può essere indicato nelle lesioni di questa struttura sono i potenziali evocati acustici del tronco encefalico (BAER). Questi esami di elettro-neurofisiologia consentono infatti, in alcuni casi, di localizzare con notevole precisione un'alterazione funzionale del tronco encefalico.

### Conclusioni

Il Blink Reflex test ed il test di Stimolazione Diretta del nervo faciale sono oggetto di studio da parte di numerosi ricercatori che si occupano di neurologia dei piccoli animali. Le possibili applicazioni di questi esami sia nella clinica dei piccoli animali che nello studio di alcune patologie del sistema nervoso appaiono molto inte-

Tabella 1. Alterazioni dei tracciati registrati eseguendo il Blink Reflex e la Stimolazione Diretta del VII nervo cranico in corso di lesioni parziali del V e VII nervo cranico e del tronco encefalico.

Struttura colpita	Alterazione Blink Reflex *	Alterazione Stimolazione Diretta VII nervo cranico *	Alterazione R1/D *
VII NERVO CRANICO DISTALE (PORZ. EXTRAOSSEA)	↑ latenza di R1 e R2 ipsilaterali; latenza di R2 controlaterale normale.	↑ latenza di D.	R1/D diminuito.
VII NERVO CRANICO PROSSIMALE (PORZ. INTRAOSSEA)	↑ latenza di R1 e R2 ipsilaterali; latenza di R2 controlaterale normale.	Latenza di D normale.	R1/D aumentato.
V NERVO CRANICO	↑ latenza di R1, di R2 ipsilaterale e di R2 controlaterale.	Latenza di D normale.	R1/D aumentato.
TRONCO ENCEFALICO	Alterazioni variabili a seconda delle strutture nervose colpite e dell'entità del danno.		

\* In mancanza di valori normali attendibili per quanto riguarda le latenze di R1, R2 e D nel cane, la valutazione di questi parametri viene effettuata paragonando i valori del lato colpito con quelli del lato sano.

ressanti. La notevole esiguità e la ridotta variabilità morfologica dei soggetti normali esaminati rende poco utili gli intervalli di normalità per le diverse onde finora pubblicati nel cane (Whalen, 1985; Anor et al., 2000). D'altra parte la scarsa esperienza in questo campo della neurologia veterinaria riduce le possibilità di impiego di questi esami da parte del clinico. E' da ritenersi che nel giro di pochi anni questo ritardo verrà colmato, e questi, come altri esami di elettro-neurofisiologia, diventeranno per il neurologo veterinario quell'ausilio indispensabile che sono per i colleghi medici neurologi.

**Parole chiave:** Blink Reflex, Stimolazione Diretta, Nervo Faciale, Nervo Trigemino, Elettrofisiologia.

**Key words:** Blink Reflex, Facial Nerve Stimulation, Trigeminal Nerve, Electrophysiology.

**RIASSUNTO** - Il proposito di questo articolo è di illustrare i possibili impieghi del Blink Reflex test e del test di Stimolazione Diretta del nervo faciale nella diagnosi delle disfunzioni del nervo faciale, del nervo trigemino e del tronco encefalico del cane. Nella prima parte vengono trattate le metodiche di esecuzione di questi test e l'interpretazione clinica dei tracciati. Quindi vengono illustrate le modificazioni dei tracciati che si riscontrano in alcune patologie quali: la paralisi e lo spasmo del facciale, la paralisi della mandibola, l'iperestesia e l'ipoestesia del trigemino.

**SUMMARY** - The purpose of this article is to illustrate the potential usefulness of the Blink Reflex test and of the Facial Motor Nerve Stimulation in the diagnosis of facial, trigeminal and brainstem dysfunctions in dogs. The first part focuses on the techniques and clinical interpretation of these tests. The article subsequently illustrates the modifications of tracings occurring in some diseases like facial paralysis, hemifacial spasm, mandibular paralysis, and trigeminal hyperesthesia and hypesthesia.

### *Bibliografia*

ANOR S., ESPADALER J.M., PASTOR J., PUMAROLA M.: Electrically induced blink reflex and facial motor nerve stimulation in Beagles. *J. Vet. Intern. Med.*, **14**: 418-423, 2000.

COLLETTI V., SITTONI V.: Paralisi del nervo faciale. In: *Otologia clinica* – Libreria editrice internazionale, Milano, 1993.

INAGAKI M., TAKESHITA K., NAKAO S., SHIRAIISHI Y., OIKAWA T.: An electrophysiologically defined trigemino-reticulo-facial pathway related to the blink reflex in the cat. *Neuroscience Letters*, **96**: 64-69, 1989.

KIMURA J.: The blink reflex. In: *Electrodiagnosis in diseases of nerve and muscle* – F.A. Davis Company, Philadelphia, 1989.

LEDOUX M.S., LORDEN J.F., WEIR A.D., SMITH J.M.: Blink reflex to the supraorbital nerve in the cat. *Exp. Brain Res.*, **116**: 104-112, 1997.

OLIVER J.E., LORENZ M.D, KORNEGAY J.N.: Disorders of the face, tongue, esophagus, larynx, and hearing. In: Handbook of veterinary neurology – 3<sup>rd</sup> edition. W. B. Saunders, Philadelphia, 1997.

SALERNO G.M., BLEICHER J.N., STROMBERG B.V.: Blink reflex recovery after electrical stimulation of the reinnervated orbicularis oculi muscle in dogs. Annals of plastic surgery, **25**: 360-371, 1990.

TAMAI Y., IWAMOTO M., TSUJIMOTO T.: Pathway of the blink reflex in the brainstem of the cat: interneurons between the trigeminal nuclei and the facial nucleus. Brain Research, **380**: 19-25, 1986.

WHALEN L.R.: Electrophysiologic studies of the facial reflexes of the dog. Am. J. Vet. Res., **46**: 229-234, 1985.

## UTILITA' DIAGNOSTICA DELL'ESAME DEL LIQUIDO CEFALORACHIDIANO NEL CANE

Callegari D.<sup>1</sup>, Bianchi E. <sup>1</sup>

### *Introduzione*

Il liquido cefalorachidiano (denominato anche liquor) è un fluido trasparente che permea tutto il sistema nervoso centrale (SNC) e lo mantiene in sospensione, proteggendolo, nutrendolo e contribuendo alla regolazione della pressione intracranica. Viene prodotto a partire dal plasma, principalmente a livello del plesso coroideo, nel sistema ventricolare dell'encefalo, circola attraverso i ventricoli encefalici fino a passare nello spazio subaracnoideo attraverso le aperture laterali del quarto ventricolo, da qui filtra tra la pia madre e l'aracnoide dell'encefalo e del midollo spinale. Fluisce principalmente in direzione caudale, e viene assorbito dai villi aracnoidali dei seni venosi e delle vene cerebrali.

L'analisi del liquido cefalorachidiano rappresenta un esame di notevole utilità nella diagnosi di molte malattie del sistema nervoso centrale, dal momento che qualsiasi alterazione del tessuto nervoso in prossimità della superficie a contatto con il liquido cefalorachidiano si riflette in modificazioni della composizione del liquido stesso. In particolare, questo esame rappresenta lo strumento diagnostico più importante nelle patologie infiammatorie, ma il suo impiego risulta molto utile anche nelle neoplasie e in tutte le patologie che causano una degenerazione del tessuto nervoso. Obiettivo del presente lavoro è, dopo aver illustrato le caratteristiche del liquido cefalorachidiano normale, di mettere in evidenza le modificazioni biochimiche, fisiche e citologiche del liquor che si riscontrano nelle principali patologie del sistema nervoso centrale del cane.

### *Caratteristiche del liquido cefalorachidiano normale*

Il liquido cefalorachidiano nel cane e nei piccoli animali può essere prelevato da due diverse sedi: dalla cisterna magna (a livello della giunzione articolare atlanto-occipitale della regione cervicale della colonna vertebrale), o dallo spazio subaracnoideo nella regione lombare, tra L4 ed L5 o tra L5 ed L6. Dal momento che il liquor fluisce in direzione cranio caudale, il prelievo deve essere effettuato caudalmente alla lesione, quindi a livello lombare nelle patologie spinali, e dalla cisterna magna nelle patologie encefaliche. In questo modo si otterranno campioni più significativi dal punto di vista diagnostico.

---

<sup>1</sup> Dipartimento di Salute Animale, Sezione di Clinica Medica, Università degli Studi, Via del Taglio 8, 43100 Parma.

Il prelievo del liquido cefalorachidiano va effettuato su soggetti anestetizzati ed intubati al fine di impedire movimenti pericolosi e per mantenere la pervietà delle vie respiratorie. Non va effettuato il prelievo quando si sospetta un aumento della pressione intracranica, come in caso di trauma cranico acuto, idrocefalo, edema cerebrale, o in presenza di grosse neoformazioni encefaliche.

Il liquor di un soggetto normale si presenta come un liquido incolore e limpido, simile ad acqua distillata, con un peso specifico che può variare da 1.004 a 1.006.

La quantità di cellule in esso contenuta è molto ridotta rispetto a quella del sangue. Gli eritrociti dovrebbero essere del tutto assenti o, al massimo, in numero inferiore a 5 cellule per  $\text{mm}^3$ , anche se spesso si trovano in quantità maggiori a causa della contaminazione ematica che frequentemente si verifica in sede di prelievo. I leucociti sono inferiori a 8 cellule per  $\text{mm}^3$  (Chrisman, 1992) e sono formati prevalentemente da linfomononucleati (linfociti e monociti), anche se un numero basso di neutrofili non degenerati può essere presente. Altri tipi cellulari che si possono rinvenire in un campione normale sono qualche rara plasmacellula, cellule delle leptomeningi, del plesso coroideo e le cellule ependimali. Qualsiasi altro tipo cellulare riscontrato nel liquor (cellule neoplastiche, eosinofili, agenti batterici, fungini, etc.) è indice di anomalia del SNC, ed è di fondamentale importanza escludere che sia derivante da contaminazioni avvenute durante o dopo il prelievo (Chrisman, 1992).

Anche il contenuto proteico del liquido cefalorachidiano è molto basso: rispettivamente 15 e 30 mg/dL per campioni prelevati a livello di cisterna magna e di cisterna lombare. Le frazioni proteiche, ottenibili mediante tracciato elettroforetico, sono le seguenti: 5% prealbumine, 30-40% albumine, 24-31%  $\alpha$ -globuline, 19-30%  $\beta$ -globuline e 6-9%  $\gamma$ -globuline (Sorjonen et al., 1989).

Un'indicazione dell'integrità della barriera ematoencefalica deriva dallo studio dell'albumina. Dal momento infatti che questa proteina non viene prodotta da nessuna cellula del sistema nervoso centrale, tutta l'albumina presente nel liquido cefalorachidiano (LCR) è di provenienza ematica. In particolare si calcola l'*Albumin Quota* (AQ), dato dal rapporto tra le albumine presenti a livello di LCR (mg/dL) e quelle presenti nel siero (g/dL), moltiplicate per 10. In condizioni normali l'AQ è compreso tra 0.17 e 0.3 (Coates, 2000).

$$\text{AQ} = \frac{\text{Albumine LCR (mg/dL)}}{\text{Albumine siero (g/dL)} \times 10}$$

Una volta trovato l'AQ è possibile stabilire l'entità della risposta immunitaria locale calcolando l'IgG Index, dato dal rapporto tra le IgG del liquido cefalorachidiano e quelle del siero diviso per l'AQ (Coates, 2000). L'IgG Index permette di valutare l'effettiva presenza di immunoglobuline derivanti dalla sintesi intratecale, poiché tiene conto anche del grado di integrità di barriera e/o di contaminazioni ematiche verificatesi durante il prelievo. L'IgG Index deve essere compreso tra 0.2 e 1.3 (Tipold et al., 1995) .

$$\text{IgG Inex} = \frac{\frac{\text{IgG (mg/dL)}}{\text{IgG siero (mg/dL)}}}{\text{AQ}}$$

Può essere utile calcolare anche le IgA, che in cani normali variano da 0 a 0.2 µg/ml, e le IgM, che variano da 0 a 5.8 µg/ml (Tipold, 1995).

Un altro parametro significativo è la glicorrachia che è la concentrazione liquorale del glucosio. Questo valore deve essere il 60-80% della glicemia (Cook e Denicola, 1988).

Le caratteristiche del liquido cefalorachidiano normale del cane sono riassunte nella tabella 1.

Tab.1: caratteristiche fisiologiche del liquido cefalorachidiano nel cane

<b>ASPETTO</b>	Limpido ed incolore
<b>PESO SPECIFICO</b>	1.004-1.006
<b>GLOBULI ROSSI/mm<sup>3</sup></b>	0-5
<b>GLOBULI BIANCHI/ mm<sup>3</sup></b>	< 8
<b>FORMULA LEUCOCITARIA</b>	Prevalenza di linfomononucleati. Basso numero di: neutrofili non degenerati, eosinofili, plasmacellule, cellule delle leptomeningi, del plesso corioideo, cellule ependimali.
<b>PROTEINE (mg/dL)</b>	Cisterna magna: ≤ 15 Cisterna lombare: ≤ 30
<b>TRACCIATO ELETTROFORETICO</b>	5% prealbumine, 40% albumine, 30-40% α-globuline, 19-31% β-globuline, 6-9% γ-globuline
<b>AQ</b>	0.17-0.3
<b>IgG INDEX</b>	0.2-1.3
<b>IgA (µg/ml)</b>	0-0.2
<b>IgM (µg/ml)</b>	0-5.8
<b>GLICORRACHIA</b>	60-80% della glicemia

### *Meningiti batteriche*

I batteri più frequentemente implicati in queste forme sono *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Pasteurella multocida* ed *Escherichia coli*; meno comunemente *Proteus*, *Pseudomonas*, *Salmonella* e *Klebsiella*. *Actinomyces*, *Nocardia* e qualche anaerobio come *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Peptostreptococcus* ed *Eubacterium* (Munana, 1996).

Questi batteri possono raggiungere il sistema nervoso centrale per impianto diretto in seguito ad interventi chirurgici, prelievo di liquor o traumi; per estensione di infezioni di strutture adiacenti come otiti interne, ascessi retrobulbari e dentali, infezioni dei seni paranasali o discospondiliti; oppure per via ematogena in corso di batteriemia secondaria ad endocarditi, infezioni delle vie urinarie e polmonari. In genere il tessuto nervoso è piuttosto resistente alle infezioni ed è di difficile raggiungimento per i microrganismi se la barriera ematoencefalica è integra. L'imaturità del sistema immunitario nei cuccioli e un abbassamento delle difese immunitarie negli adulti possono favorire l'insorgenza di questo tipo di patologia, che comunque resta un evento piuttosto raro nel cane (Cizinauska et al., 2001).

I sintomi più comuni in corso di meningite batterica sono: febbre, iperestesia generalizzata o localizzata, in particolare al collo, rigidità nucale, depressione del sensorio. In base all'estensione ed alla gravità dell'infezione si possono riscontrare anche altri segni clinici come tetraparesi, profonda alterazione dello stato mentale, vomito, fotofobia, atassia, convulsioni e deficit dei nervi cranici. In caso di ascessi del SNC si riscontrano segni di alterazioni focali del tessuto nervoso, associati o meno a segni di interessamento delle meningi (Munana, 1996).

La diagnosi si basa principalmente sull'analisi del liquido cefalorachidiano. Ulteriori indagini di laboratorio, come l'emocromo, la ricerca di anticorpi specifici nel siero, oltre che nel liquor, l'elettroencefalografia, la tomografia assiale computerizzata (TAC) e la risonanza magnetica (RMN) possono essere di aiuto. L'esame colturale del liquor risulta spesso negativo anche in casi confermati di meningite batterica. Questo fenomeno sembra dipendere dal basso numero di batteri presenti all'interno del SNC (Ciznauskas et al., 2001). Un'emocoltura o un'urocoltura possono talvolta essere d'aiuto nell'identificazione dell'agente causale, nel caso delle infezioni avvenute per via ematica (Oliver et al., 1997).

Il trattamento andrebbe basato sui risultati dell'esame colturale e dell'antibiogramma eseguiti sul LCR. In mancanza di queste informazioni si dovrà scegliere un antibiotico con un ampio spettro d'azione, che sia in grado di penetrare la barriera emato-encefalica. L'impiego dei cortisonici nelle meningiti batteriche rimane controverso. La prognosi dipende dalla gravità dell'infezione e dalla precocità dell'intervento terapeutico. Una terapia tempestiva ed aggressiva in genere dà ottimi risultati, anche se in alcuni casi si possono verificare recidive e possono residuare deficit neurologici.

### **Modificazioni del LCR**

Il liquido cefalorachidiano si presenta di colore grigio o grigio-verdastro, spesso si riscontra la formazione di precipitati e coaguli dovuti alla presenza di fibrinogeno, modificazione che è tipica dei processi infiammatori. Le cellule sono notevolmente aumentate con un'elevata percentuale (dal 75% al 100%) di neutrofilo degenerati (Chrisman, 1992). Se il cane è stato trattato con antibiotici, tuttavia, ci può essere predominanza di linfomononucleati, con presenza di pochi neutrofilo, solitamente non degenerati (Chrisman, 1992). Il ritrovamento di batteri nel preparato citologico è un evento piuttosto raro, per cui la loro assenza sul vetrino non ci permette di escluderli quali causa della meningite in atto.

Le proteine totali sono notevolmente aumentate a causa del danno di barriera, il

quale provoca un maggior passaggio delle proteine al liquor (Coates, 2000). Si ha, inoltre, una diminuzione della glicorrachia in quanto il glucosio viene utilizzato dalle cellule infiammatorie e dai batteri per il loro metabolismo (Cook e Denicola, 1998).

### *Cimurro*

Il virus del cimurro (CDV, canine distemper virus) è un Morbillivirus della famiglia dei Paramixovirus, che colpisce i cani di tutte le età ma con incidenza maggiore nei cuccioli non vaccinati dopo la perdita dell'immunità passiva materna (a 6-12 settimane di età).

Esistono tre diverse forme neurologiche di questa patologia: la polioencefalomiopatia (PEM) dei cani giovani, la leucoencefalomiopatia (LEM) dei cani maturi e una sindrome conosciuta col nome di "old dog encephalitis" (ODE) che coinvolge generalmente cani con un'età superiore ai 6 anni. In corso di **PEM** si evidenziano principalmente sintomi gastroenterici e respiratori quali vomito, diarrea, tosse e scolo oculo-nasale sieroso-muco-purulento, alcuni cani presentano ipercheratosi dei cuscinetti plantari, congiuntivite e coriorietinite. Tra i sintomi neurologici si possono riscontrare crisi convulsive e alterazioni della personalità come depressione e disorientamento, ipermetria, incoordinazione, cadute, rotazione della testa e nistagmo. Occasionalmente si può verificare monoplegia o paraplegia. Un sintomo piuttosto caratteristico è il mioclono, che può interessare i muscoli flessori degli arti, i muscoli addominali e la muscolatura cervicale, ma anche i masseteri e i muscoli temporali e periorbitali. Questo tipo di encefalite è associato ad un'elevata mortalità (Munana, 1996). In corso di **LEM** si possono avere disturbi della deambulazione con paresi degli arti pelvici che può evolvere in tetraplegia, atassia, ipermetria, tremori della testa, deficit vestibolari e paralisi del nervo facciale; lo stato mentale solitamente non è alterato. Alcuni cani presentano deficit mono o bilaterali del riflesso di minaccia, associati o meno ad alterazioni dei riflessi pupillari. In questa forma di cimurro il mioclono è di solito assente. I sintomi sono solitamente progressivi e il tasso di mortalità è inferiore a quello della PEM (Munana, 1996). I cani con **ODE** presentano disturbi visivi, fino alla cecità, e gravi alterazioni comportamentali quali movimenti di maneggio, ipercinesia, pressione della testa contro gli oggetti, demenza e, in casi estremi, incapacità di riconoscere il proprietario. E' comune anche la comparsa di deficit del riflesso della minaccia (Munana, 1996).

La diagnosi si basa in genere sull'anamnesi e sui sintomi clinici, soprattutto nei cuccioli. Ci si può avvalere di prove virologiche, come la ricerca di corpi inclusi citoplasmatici nei linfociti, nei campioni citologici o nei campioni bioptici, o la dimostrazione attraverso l'immunofluorescenza della presenza dell'antigene virale nelle cellule ematiche, nel CSF, nei campioni citologici e nei campioni tissutali. Tuttavia un risultato negativo di questi test non esclude la presenza del virus. Per quanto riguarda la sierologia un solo titolo di IgG positivo non è significativo, in quanto non distingue l'infezione in atto da una passata vaccinazione o esposizione al virus. La dimostrazione di un titolo anticorpale crescente o la determinazione di IgM specifiche è suggestiva ma non diagnostica di una infezione da CDV (Birchard e Sherding, 1994).

Un ulteriore ausilio diagnostico è l'esame del liquido cefalorachidiano. Anche un

esame del fondo dell'occhio può essere indicato, in quanto in numerosi casi il cimurro provoca retinocorioidite (Munana, 1996). È stato riportato, inoltre, che in corso di questa patologia l'elettroencefalogramma può mostrare un rallentamento diffuso (da 3 a 6 Hz) e un aumento dei voltaggi (da 30 a 65 Hz) (Sarfaty et al., 1986).

Non esiste un efficace trattamento antivirale per il cimurro, la terapia è quindi sintomatica. Si somministrano antibiotici ad ampio spettro per controllare le infezioni secondarie, specialmente la polmonite, per la quale ci si può aiutare anche con espettoranti e broncodilatatori. Per controllare i sintomi gastroenterici si possono utilizzare antiemetici e antidiarroici. Nei soggetti che presentano crisi epilettiche è indicata una terapia anticonvulsivante con pentobarbitale, se c'è miocloni si può utilizzare procainamide (Birchard e Sherding, 1994). Se l'animale è fortemente depresso a causa del coinvolgimento cerebrale e non ci sono gravi infezioni batteriche in atto, una terapia con glucocorticoidi può essere di aiuto. Se l'animale risponde a questa terapia, la prognosi può essere buona, ma c'è la possibilità che i farmaci antiepilettici vadano somministrati al cane per tutta la vita. Se il cane non risponde alla terapia e, anzi, le sue condizioni continuano a peggiorare, la prognosi è da ritenersi infausta e bisogna considerare l'eventualità di praticare l'eutanasia (Chrisman, 1991).

### **Modificazioni del LCR**

L'esame del liquido cefalorachidiano rivela una moderata pleiocitosi, ovvero aumento di cellule che comunque non superano le 50 cellule/mm<sup>3</sup> con prevalenza di linfociti (Chrisman, 1992) e le proteine totali risultano da mediamente a notevolmente aumentate. Questo accade in particolare quando vi è produzione intratecale di IgG. Un aumento di AQ, indice di un grave danno di barriera, è tipico dei pazienti in fase acuta e subacuta, mentre è solitamente assente in fase cronica (Coates, 2000). C'è, inoltre, un incremento dell'IgG Index, evidente soprattutto nelle forme croniche (Coates, 2000). Sempre nelle forme croniche si può verificare produzione intratecale di IgM e IgA. L'elettroforesi mostra, in fase iniziale, un aumento delle albumine, causato dal danno di barriera e visibile soprattutto nei casi a decorso acuto o subacuto. I valori di  $\gamma$ -globuline nei cani giovani con LEM, in cui il sistema immunitario è immaturo, restano bassi, mentre nei cani adulti con PEM sono notevolmente aumentati (fino a 27%) per produzione intratecale (Sorjonen et al., 1989). La sintesi intratecale di anticorpi contro il CDV è indicativa di un'infezione in atto, ma una sua mancanza non la esclude in quanto può essere dovuta ad un'inadeguata risposta immunitaria (Munana, 1996).

### *Meningoencefalite sensibile ai corticosteroidi e meningoarterite necrotizzante*

Queste patologie infiammatorie del SNC colpiscono prevalentemente cani di grossa taglia di età inferiore ai 2 anni, una predisposizione è stata riscontrata in alcune razze tra cui il Boxer e il Bovaro Bernese (Munana, 1996). La causa è sconosciuta, sicuramente un ruolo importante è giocato da meccanismi immunopatogenetici, responsabili di un'eccessiva risposta immunitaria locale (Hess e Sellon, 1997). La meningo-arterite necrotizzante è una forma più grave rispetto alla meningoencefalite sensibile agli steroidi; col termine meningite-arterite sensibile agli steroidi si identificano entrambe queste forme (Nelson e Couto, 1998). Entrambe le patologie sono

caratterizzate da febbre, prostrazione, anoressia, iperestesia e rigidità della colonna vertebrale. La presenza di deficit neurologici non è comune ma può sopraggiungere nei cani non sottoposti a terapia. Nella meningo-arterite necrotizzante è più frequente il riscontro di segni neurologici quali paralisi, cecità e crisi convulsive (Hess e Sellon, 1997).

La diagnosi si basa essenzialmente sui risultati dell'esame del LCR e sull'aumento dei valori sierici di IgA; è, inoltre, supportata dalla repentina remissione dei sintomi a seguito della terapia steroidea (Hess e Sellon, 1997).

La terapia si basa sull'utilizzo di dosi immunosoppressive di corticosteroidi (prednisione). Nella maggior parte dei casi sono necessari trattamenti a lungo termine e si possono verificare recidive con la loro interruzione. Nei casi refrattari si può far ricorso ad una terapia immunosoppressiva più aggressiva a base di azatioprina (Nelson e Couto, 1998).

La prognosi è generalmente favorevole, soprattutto se la terapia è corretta e repentina, tuttavia i casi più severi di meningo-arterite necrotizzante possono avere una prognosi riservata (Nelson e Couto, 1998).

### **Modificazioni del LCR**

Il liquido cefalorachidiano, solitamente, appare torbido e xantocromico, ovvero di colore giallo – arancio, ed ha peso specifico superiore alla norma. I globuli bianchi sono notevolmente aumentati, e possono superare le 500 cellule/mm<sup>3</sup> (Chrisman, 1992). Similmente a quanto avviene per le meningiti batteriche, si riscontra la presenza di un 75-100% di neutrofili i quali, però, sono intatti e non degenerati (Chrisman, 1992); in alcuni casi si trova anche qualche eosinofilo (Hess e Sellon, 1997).

La concentrazione proteica liquorale è notevolmente aumentata (> 300 mg/dL) (Chrisman, 1992) e lo stesso vale per l'IgG index, che può arrivare fino a 6 (Hess e Sellon, 1997). Sono stati riscontrati anche alti livelli di IgM e di IgA di produzione intratecale (Hess e Sellon, 1997).

### *Meningoencefalomielite granulosa*

La meningoencefalite granulomatosa (GME) è una patologia infiammatoria idiopatica, acuta e progressiva riscontrata, generalmente, in cani adulti di piccola o media taglia; è stata riscontrata una predisposizione nei terriers e nei barboncini. Viene comunemente considerata una malattia immunomediata (Munana, 1996). Esistono tre diverse forme cliniche di questa patologia: la forma oculare, la forma focale e la forma diffusa. La forma oculare si manifesta con riduzione della vista, midriasi e mancanza del riflesso pupillare. Un esame oftalmologico rivela neurite del nervo ottico. Nelle altre due forme i sintomi sono molto variabili e rispecchiano le sedi interessate dalle lesioni, si possono avere iperestesia, convulsioni, disorientamento, sindrome vestibolare, mielopatie e che possono progredire fino alla tetraparesi. E' spesso presente la febbre (Munana, 1996).

L'esame emocromocitometrico, le analisi biochimiche, gli esami radiografici del cranio e del midollo spinale non mostrano in genere alcuna modificazione; l'elettroencefalogramma può essere normale o presentare alterazioni aspecifiche. L'analisi del LCR è lo strumento diagnostico più utile in questa patologia.

Anche in questo caso la terapia si basa sull'utilizzo di dosi immunosoppressive di corticosteroidi (prednisone) ma, contrariamente a quanto si verifica per la meningoccefalite sensibile ai corticosteroidi, non sempre i pazienti rispondono alla terapia e la prognosi è, nella maggior parte dei casi, infausta (Munana, 1996).

### **Modificazioni del LCR**

Il LCR può apparire limpido o torbido, e il peso specifico può essere normale o lievemente aumentato (Bailey e Higgins<sup>1</sup>, 1986). Si ha, in genere, una pleiocitosi mononucleata con prevalenza di linfociti, ma sono stati riscontrati anche casi di neutrofilia (Munana, 1996). Si verifica, inoltre, un aumento proteico da moderato a notevole, in alcuni casi i valori possono essere anche superiori a 500 mg/dL (Bailey e Higgins<sup>1</sup>, 1986). Il tracciato elettroforetico è molto caratteristico: si ha un aumento sia delle  $\beta$ - (32%) che delle  $\gamma$ -globuline (16%) che formano il tipico ponte  $\beta$ - $\gamma$  (Sorjonen et al., 1991). L'AQ è, in genere, notevolmente aumentato (Coates, 2000). L'IgG index è sempre aumentato (in genere entro i  $6 \mu\text{g ml}^{-1}$  anche se sono stati riscontrati dei picchi di  $33.9 \mu\text{g ml}^{-1}$ ) (Tipold et al., 1994). Le IgA presentano valori superiori alla norma con valori sierici normali, mentre le IgM possono essere normali o aumentate (Tipold et al., 1994).

### *Neoplasie del SNC*

Le neoplasie che colpiscono il sistema nervoso centrale possono essere primarie o secondarie; tra i tumori primari abbiamo l'astrocitoma, il papilloma del plesso corioideo, l'ependimoma, il meningioma e l'oligodendroglioma.

Indipendentemente dal tipo, i tumori alterano le funzioni del sistema nervoso attraverso distruzione di tessuto nervoso, compressione di strutture circostanti, disturbi di circolo, edema cerebrale, e disturbi nella circolazione del liquido cefalorachidiano (Oliver et al., 1997).

I tumori primari, in genere, evolvono lentamente producendo una sintomatologia cronica e progressiva, mentre quelli secondari tendono ad essere più aggressivi e solitamente causano una sintomatologia acuta. I tumori cerebrali possono diventare relativamente grandi (più di 1 cm di diametro) prima di mostrare sintomi clinici, tuttavia alcuni soggetti possono mostrare vaghi segni, come alterazioni comportamentali, anche un anno prima di mostrare deficit neurologici evidenti. Episodi convulsivi possono essere il primo segno di tumore encefalico, poi, una volta che il tumore si espande si evidenziano altri sintomi che dipendono dalla localizzazione della massa. Nel caso delle neoplasie midollari i sintomi sono sovrapponibili a quelli dovuti a degenerazione midollare conseguente a compressioni o a mielopatia degenerativa (Oliver et al., 1997).

La diagnosi si basa principalmente sull'utilizzo di tecniche di diagnostica per immagini quali Rx, mielografia, TAC o RMN. Anche il liquido cefalorachidiano può fornire ulteriori informazioni ma il prelievo, in caso di neoformazione encefalica, può essere rischioso in quanto, essendo la pressione intracranica aumentata la decompressione successiva alla centesi può, in alcuni casi, provocare un'erniazione dell'encefalo (Oliver et al., 1997).

Le terapie impiegate nelle neoplasie del SNC sono l'asportazione chirurgica, la

chemioterapia, l'immunoterapia e la radioterapia. Gli interventi terapeutici devono essere scelti sulla base del tipo e della localizzazione della massa.

### **Modificazioni del LCR**

Il liquor si può presentare limpido o xantocromico, e con peso specifico da normale ad aumentato a seconda del rialzo proteico; in genere non si verifica un notevole aumento di cellule a meno che non si verificano necrosi o coinvolgimento meningeo, come in caso di meningioma, in cui la conta è spesso  $>500$  cellule/mm<sup>3</sup> (Chrisman, 1992).

Le cellule tumorali raramente sono visibili nei preparati citologici di liquido cefalorachidiano e se presenti indicano solitamente un coinvolgimento meningeo (come in caso di meningioma). A volte sono riscontrabili linfoblasti, in caso di linfosarcoma con coinvolgimento del SNC, anche se l'assenza di tali cellule non ci permette di escludere la patologia (Chrisman, 1992). Nella maggior parte dei casi, comunque, non è possibile diagnosticare il tipo di neoplasia in base alla morfologia delle cellule riscontrate nel liquor (Grevel e Machus, 1990).

L'aumento proteico è l'anomalia più frequente (con valori che vanno dai 38 ai 140 mg/dL) (Bailey e Higgins<sup>2</sup>, 1986) ed è il risultato di necrosi tissutale o distruzione focale della barriera ematoencefalica. Alcuni processi neoplastici causano anche produzione locale di immunoglobuline (Chrisman, 1992). La neoplasia col maggior aumento proteico è il papilloma del plesso corioideo (Coates, 2000). Solitamente anche l'AQ è notevolmente aumentato (Coates, 2000).

Per quanto riguarda il tracciato elettroforetico, si ha un aumento delle albumine (4%) e un lieve aumento delle  $\alpha$ - e  $\beta$ -globuline, che tuttavia restano all'interno del *range* di normalità (rispettivamente 28 e 18%) (Sorjonen et al., 1991) in un a percentuale ridotta di forme tumorali si può avere un aumento delle  $\gamma$ -globuline.

In alcuni casi, infine, si può riscontrare un lieve aumento relativo della glicorrahchia (Cook e Denicola, 1988).

### *Compressione midollare*

I traumi sono la causa più frequente di patologia del midollo spinale e si possono verificare a partire da una sorgente esterna, come nei casi di incidenti automobilistici o di forti traumi, o da una sorgente interna, come nel caso di ernie del disco o di fratture delle vertebre.

I sintomi dipendono dalla gravità e dalla localizzazione del danno midollare. Si può avere atassia, paresi o paralisi di uno o più arti, zone di anestesia o iperestesia, incontinenza o ritenzione fecale ed urinaria e difficoltà respiratoria (Birchard e Sherding, 1994). All'esame neurologico si possono evidenziare frequentemente alterazioni dei riflessi spinali, delle reazioni posturali, e della sensibilità dolorifica. L'esame neurologico e la valutazione precisa dell'insorgenza (acuta, subacuta o cronica) e dell'evoluzione (progressiva o non progressiva) della patologia sono solitamente sufficienti per localizzare con discreta precisione la lesione, e per avanzare un'ipotesi diagnostica e prognostica abbastanza accurate (Birchard e Sherding, 1994).

Gli esami collaterali più utili in queste patologie sono le tecniche di diagnostica

per immagini: Rx, mielografia, discografia, TAC e RMN. Ulteriori indicazioni possono derivare dall'impiego dei test elettrodiagnostici, in particolare dall'elettromiografia, e dall'esame del liquido cefalorachidiano prelevato a livello lombare (Birchard e Sherding, 1994).

La terapia sia medica che chirurgica deve essere, soprattutto nei casi più gravi, immediata. Dal punto di vista farmacologico, un valido aiuto nei traumi acuti del midollo spinale sono considerati i cortisonici a rapida azione, in particolare il metilprednisolone sodio succinato. Il ricorso ad una decompressione chirurgica del midollo e ad una stabilizzazione della colonna vertebrale consente in molti casi un recupero della funzionalità midollare. La fisioterapia è di vitale importanza per affrettare il ritorno ad uno stato funzionale normale e può essere effettuata tramite sedute giornaliere di nuoto, deambulazione con appositi sostegni, manipolazioni degli arti e massaggi muscolari (Birchard e Sherding, 1994).

La prognosi è molto variabile, e dipende dalla localizzazione e dall'estensione e dalla gravità della degenerazione midollare.

### **Modificazioni del LCR**

Il liquido cefalorachidiano si presenta generalmente limpido; in alcuni casi, però, si possono avere xantocromia e formazione di coaguli, associate a un marcato aumento delle proteine, questo fenomeno prende il nome di *Froin' sindrome* (Coates, 2000). Il peso specifico può essere normale o aumentato a seconda del rialzo proteico. La conta si presenta normale o solo lievemente aumentata (di poco superiore alle 20 cellule/mm<sup>3</sup>) (Chrisman, 1992). Il blocco del flusso spinale, causato dalla compressione midollare, può provocare aumento della permeabilità e diminuzione dell'assorbimento delle proteine. Inoltre la distruzione focale di tessuto nervoso causa edema, ischemia e necrosi che a loro volta provocano rilascio di proteine neurali e trasudazione di proteine sieriche a livello di liquido cefalorachidiano. Questi fenomeni causano un aumento delle proteine totali, evidente soprattutto in corso di compressione midollare acuta e severa. Cani con patologie compressive del midollo spinale possono quindi avere un danno di barriera di vario grado con AQ da moderatamente a notevolmente aumentata. In alcuni casi, infine, si possono avere lievi aumenti relativi della glicorrachia (Cook e Denicola, 1988).

### *Mielopatia degenerativa*

La mielopatia degenerativa è una patologia probabilmente su base autoimmune che colpisce soprattutto i Pastori Tedeschi di più di 5 anni di età. E' stato ipotizzato anche il coinvolgimento nella patogenesi di fattori genetici, tossici e carenziali, in particolar modo di vitamine del gruppo B e di vitamina E (Clemmons, 1989). La degenerazione midollare è lenta e progressiva ed interessa il tratto toracolombare. I primi sintomi sono deficit propriocettivi, atassia e paresi degli arti pelvici. Gli arti colpiti sono i posteriori, in cui si riscontra frequentemente l'appoggio dei piedi sul dorso e incrocio delle zampe (Clemmons, 1989).

Le lesioni non sono evidenziabili con gli esami radiografici, la mielografia e la TAC. Gli unici esami collaterali utili nella diagnosi di mielografia degenerativa sono l'esame del liquor, alcuni test elettrodiagnostici, in particolare i potenziali evocati

somatosensoriali (SSEP) e soprattutto la RMN (Clemmons, 1989). Mediante risonanza magnetica è infatti possibile evidenziare delle lesioni degenerative del midollo toracolombare.

Non esiste una terapia specifica. Un protocollo terapeutico abbastanza efficace, secondo alcuni Autori, è quello basato sull'impiego di acido aminocaproico (Clemmons, 1989). Non si è finora riusciti comunque a bloccare completamente la progressione della patologia, la prognosi è perciò da ritenersi infausta.

### **Modificazioni del LCR**

L'esame del liquido cefalorachidiano mostra un aumento delle proteine e un tracciato elettroforetico tipico di un processo infiammatorio, ovvero con un notevole aumento delle globuline. Anche l'IgG Index è notevolmente aumentato. È stato riportato, inoltre, un aumento della concentrazione liquorale di acetilcolinesterasi (Clemmons, 1989).

### *Meningoencefalomieliti protozoarie*

*Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* sono parassiti intracellulari che una volta ingeriti possono incistarsi in vari tessuti ed organi. Quando si localizzano nel SNC causano encefalomieliti e poliradiculoneuriti. I segni clinici sono multifocali e progressivi. Si possono avere paralisi ascendente, rigidità, disfagia, crisi convulsive, alterazioni del comportamento, deficit dei nervi cranici, sintomi cerebellari. La diagnosi si basa su test antigenici o anticorpali, o sulla ricerca dei tachizoiti su campioni biotici. Il liquido cefalorachidiano si presenta alterato. La terapia si basa sulla somministrazione di clindamicina cloridrato (Munana, 1996).

La prognosi dipende dalla precocità dell'intervento terapeutico.

### **Modificazioni del LCR**

Il liquido cefalorachidiano appare limpido e con peso specifico normale; mostra marcata pleiocitosi (in genere superiore alle 100 cellule/mm<sup>3</sup>) che può essere mista o con prevalenza di eosinofili (Chrisman, 1992). Le proteine sono notevolmente aumentate e in genere superano i 100 mg/dL (Oliver et al., 1997). Difficilmente i protozoi sono visibili nei preparati citologici in quanto solitamente restano confinati nei tessuti del SNC (Chrisman, 1992).

### *Patologie da Rickettsie*

## **EHRlichiosi**

*Ehrlichia canis* è un parassita intracellulare trasmesso al cane dal morso delle zecche, che provoca vasculite con diatesi emorragica. Un terzo dei cani affetti da questa patologia sviluppano sintomi nervosi quali convulsioni, disfunzioni vestibolari e cerebellari ed iperestesia dovuti all'infiammazione meningea. La diagnosi si basa sul ritrovamento di un titolo sierologico o liquorale positivo a *E. canis* (Munana, 1996). Si può basare anche sulle alterazioni del liquido cefalorachidiano ma bisogna

usare estrema cautela durante il prelievo soprattutto nei soggetti con grave trombocitopenia, nei quali la centesi può causare sanguinamento nello spazio subaracnoideo con esacerbazione dei sintomi. Il trattamento di scelta si basa sulla somministrazione di tetracicline. La prognosi, se la terapia è effettuata correttamente, può essere favorevole (Munana, 1996).

### **Modificazioni del LCR**

In questa patologia il liquido cefalorachidiano appare limpido e con peso specifico normale. I leucociti sono moderatamente aumentati e sono costituiti prevalentemente da linfomononucleati. Anche i valori proteici, infine, risultano superiori alla norma (Munana, 1996).

### **ROCKY MOUNTAIN SPOTTED FEVER**

La Rocky Mountain Spotted Fever (RMSF) è causata da *Rickettsia rickettsii*. Ha un'incidenza stagionale che copre il periodo che va da aprile a settembre e provoca vasculite necrotizzante. Un terzo dei cani colpiti presenta sintomi neurologici quali convulsioni, alterazione del livello di coscienza e dolore cervicale. L'evoluzione può essere rapidamente progressiva nei casi più gravi e portare alla morte. La terapia deve essere tempestiva ed aggressiva e si basa sull'utilizzo di tetracicline (Munana, 1996).

### **Modificazioni del LCR**

Anche in questo caso il liquido cefalorachidiano è limpido, di peso specifico normale e presenta moderata pleiocitosi, a differenza di quanto si verifica in corso di Ehrlichiosi, però, le cellule sono per la maggior parte costituite da neutrofili. In alcuni casi, tuttavia, il liquor può restare normale o mostrare pleiocitosi mononucleata. I valori proteici sono moderatamente aumentati (Munana, 1996).

**Parole chiave:** cane, liquido cefalorachidiano, LCR, neurologia.

**Key words:** dog, cerebrospinal fluid, CSF, neurology.

**RIASSUNTO** – Dopo un breve accenno alla fisiologia e alla funzione del liquido cefalorachidiano (LCR), gli autori trattano in modo dettagliato i valori normali e i parametri valutati durante l'analisi del LCR. Vengono quindi descritte le patologie del sistema nervoso centrale (SNC) più comuni nel cane. Gli autori trattano in modo particolare le alterazioni dei parametri del LCR associate alle malattie del SNC. Una particolare attenzione viene riservata all'utilità dell'impiego dell'analisi del LCR nella diagnosi delle patologie infiammatorie e neoplastiche del SNC del cane.

**SUMMARY** – Following a brief review of the physiology and function of cerebrospinal fluid (CSF), the authors thoroughly discuss the parameters evaluated during CSF analysis and the normal values. Then most common neurologic diseases of canine central nervous system (CNS) are outlined. Authors especially review the alterations of the CSF parameters associated with CNS diseases. Particular emphasis is placed on the usefulness of this analysis for the diagnosis of CNS inflammation and neoplasia of the dog.

## *Conclusioni*

L'esame del liquido cefalorachidiano occupa un posto di primo piano tra gli esami collaterali a disposizione del neurologo. Come visto, infatti, il suo impiego è auspicabile in un'ampia gamma di patologie che vanno dalle neuropatie degenerative, a quelle infiammatorie, a quelle neoplastiche. Ma dove l'analisi del LCR diventa insostituibile è nella diagnosi delle patologie infiammatorie del sistema nervoso centrale. In queste malattie, grazie all'impiego di questo esame, è spesso possibile identificare gli agenti eziologici responsabili.

Se quindi già molto interessanti ed utili dal punto di vista clinico sono le conoscenze sull'impiego di questa analisi nella neurologia del cane, ancora più promettenti sembrano essere le possibili applicazioni future di un esame ancora più accurato del liquor. I campi di ricerca più promettenti sono senz'altro quelli riguardanti la differenziazione delle frazioni proteiche, l'identificazione e la quantificazione delle immunoglobuline e lo studio delle modificazioni di alcuni enzimi del liquor in corso di patologie del SNC. Dall'esito di questi studi dipenderanno molte delle possibilità di chiarire la patogenesi di alcune neuropatie del cane ancora oscure e di documentare la presenza di modificazioni "specifiche" del LCR e quindi utilizzabili in campo diagnostico.

## BIBLIOGRAFIA

1. Bailey C. S., Higgins R. J.<sup>1</sup> (1986) – Characteristic of cerebrospinal fluid associated with canine granulomatous meningoencephalomyelitis: a retrospective study. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 4 (188), 418-421.
2. Bailey C. S., Higgins R. J.<sup>2</sup> (1986) - Characteristics of cisternal cerebrospinal fluid associated with primary brain tumors in the dog: A retrospective study. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 188(4), 414-417.
3. Birchard S. J., Sherding R. G. (1994) – Saunders Manual of Small Animal Practice. W. B. Saunders Company, Philadelphia, Pennsylvania.
4. Chrisman C. L (1991) - Problems in Small Animal Neurology. Lea & Febiger, Philadelphia.
5. Chrisman C. L. (1992) - Cerebrospinal Fluid Analysis. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 22(4), 781-810.
6. Cizinauskas S., Tipold A., Fatzer R., Burnens A., Jaggy A. (2001) – Streptococcal Meningoencephalomyelitis in 3 Dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine* , 15, 157-161.
7. Clemmons R. M. (1989) – Degenerative Myelopathy. In Kirk RW (ed.): *Current Veterinary Therapy. X. Small Animal Practice*. Philadelphia, WB Saunder Co, 830-833.
8. Coates J. R. (2000) - Cerebrospinal Proteins. In: Schalm's *Veterinary Hematology*, Lippincott Williams & Wilkins.
9. Cook J.R., Denicola D.B (1988) - Cerebrospinal Fluid. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 18(3), 475-499.

10. Grevel V., Machus B. (1990) - Diagnosing Brain Tumors with a CSF Sedimentation Technique. *Veterinary Medicine Report* (2), 403-408.
11. Hess P. R., Sellon R. K. (1997) – Steroid-Responsive, Cervical, Pyogranulomatous Pachymeningitis in a Dog. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 33, 461-468.
12. Munana K. R. (1996) – Encephalitis and Meningitis. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 4 (26), 857-874.
13. Nelson R. W., Couto C. G. (1998) – *Small Animal Internal Medicine*, Molsby.
14. Oliver J. E., Lorenz M. D., Kornegay J. N. (1997) - *Handbook of Veterinary Neurology*, W. B. Saunders Company, Philadelphia.
15. Sarfaty D., Carrillo J. M., Greenlee P. G. (1986) – Differential diagnosis of granulomatous meningoencephalomyelitis, distemper, and suppurative meningoencephalitis in the dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 4 (188), 387-392.
16. Sorjonen D. C., Cox N.R., Swango L.J. (1989) - Electrophoretic determination of albumin and gamma globulin concentrations in the cerebrospinal fluid of dog with encephalomyelitis attributable to canine distemper virus infection: 13 cases (1980-1987). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 195(7), 977-980.
17. Sorjonen D. C., Golden D. L., Levesque D.C., Shores A., Moore M. P. (1991) - Cerebrospinal Fluid Protein Electrophoresis, A clinical Evaluation of a Previously Reported Diagnostic Technique. *Progress in Veterinary Neurology*, 2(4), 261-267.
18. Tipold a., Pfister H. Zurbriggen A., Vandeveld M. (1994) – Intrathecal synthesis of major immunoglobulin classes in inflammatory disease of the canine CNS. *Veterinary Immunology and immunopathology*, 42, 149-159.
19. Tipold A., Vandeveld M., Zurbriggen A. (1995) – Neuroimmunological studies in steroid-responsive meningitis-arteritis in dogs. *Research in Veterinary Science*, 58, 103-108.

# LA CATARATTA NEL CANE: EVOLUZIONE DELLE CONOSCENZE RELATIVE ALL'INTERVENTO CHIRURGICO DI ESTRAZIONE DELLALENTE

Barbara Simonazzi<sup>1</sup>, Stefano Zanichelli<sup>1</sup>

## 1) INTRODUZIONE

Attualmente la chirurgia è l'unico modo per ripristinare la visione in un paziente non vedente a causa della cataratta. Da quando lo strumentario chirurgico è divenuto sempre più sofisticato, le tecniche chirurgiche più numerose ed il chirurgo sempre più abile nell'esecuzione degli interventi di microchirurgia, le possibilità di successo sono notevolmente aumentate fino al punto che oggi l'intervento di estrazione chirurgica del cristallino è diventato prassi comune tra gli oftalmologi veterinari.

La facoemulsificazione è, senza dubbio, la tecnica più moderna di asportazione del cristallino catarattoso. Si basa sostanzialmente sulle capacità dello strumento ad ultrasuoni (facoemulsificatore) di frammentare il materiale lenticolare ed aspirarlo grazie ad un sistema di irrigazione-aspirazione (1).

## 2) LA CATARATTA

Si definisce cataratta qualsiasi opacità della lente o cristallino o della sua capsula, a prescindere dalla sua entità e localizzazione, sia essa congenita o acquisita. Quest'opacità a carico della lente insorge a seguito di cambiamenti patologici nella composizione delle proteine del cristallino o di una rottura della disposizione delle fibre.

Il grado del danno visivo è dovuto all'estensione della cataratta ed allo sviluppo di questa in uno o in entrambi gli occhi.

Vi sono parecchi modi di classificare una cataratta. La classificazione può essere stilata in base all'eziologia, al periodo d'insorgenza, alla sede di sviluppo ed allo stadio di evoluzione.

Per quanto riguarda l'eziologia si possono avere cataratte traumatiche, metaboliche (conseguenti ad esempio a diabete mellito), ereditarie, su base tossica (sostanze chimiche, radiazioni, elettricità) o nutrizionali (dovute ad alimentazione dei cuccioli tramite sostituti del latte materno), secondarie a malattie sistemiche o ad altre patologie oculari (ad esempio uveite, lussazione della lente ed atrofia progressiva della retina) (8, 23). Tra le razze in cui la cataratta viene considerata una patologia ereditaria annoveriamo l'American Cocker Spaniel, il Boston Terrier, il Pastore Tedesco,

---

<sup>1</sup> Sezione di Clinica Chirurgica Veterinaria e Medicina D'Urgenza, Dipartimento di Salute Animale, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Parma.

il Golden ed il Labrador Retriever, lo Schnauzer Nano, il Bob Tail, il Barbone ed il West Highland White Terrier (11) (Foto 1).

Se consideriamo il periodo d'insorgenza parleremo invece di cataratte congenite, giovanili e senili. Per quanto riguarda la sede di sviluppo invece, si avranno cataratte capsulari, sottocapsulari, nucleari, corticali, equatoriali, delle linee di sutura, polari o zonulari a seconda di quale porzione della lente è coinvolta dal processo patologico (20, 23).

In base allo stadio evolutivo parleremo invece di cataratta incipiente in cui è coinvolto dal processo patologico solo un 10-15% della lente e quindi si riescono ancora a visualizzare i particolari del fondo dell'occhio (in questo caso la visione non è compromessa) (11), di cataratta immatura in cui all'esame oftalmoscopico è ancora visibile solo il riflesso del fondo, di cataratta matura nella quale non è più distinguibile nemmeno il riflesso tappetale e l'animale è quindi cieco in quell'occhio (Foto 3). Infine si parla di cataratta ipermatura quando si ha la liquefazione della corticale dovuta all'azione di enzimi proteolitici e la fuoriuscita delle proteine della lente attraverso la capsula lenticolare (8). Il riassorbimento del materiale lenticolare può portare in queste fasi al ripristino di parte della visione ed alla possibilità di percepire il riflesso tappetale. Spesso, in concomitanza con questa situazione, si verifica anche un'uveite "lente indotta" più o meno grave, a causa dell'antigenicità delle proteine rilasciate dal cristallino (8, 11, 22, 27) (Foto 4).

La maggior parte delle opacità della lente osservate nel cane sono di natura ereditaria. Le cataratte ereditarie sono in genere bilaterali, ma raramente simmetriche. Nonostante gli animali vengano di frequente portati alla visita clinica per una cataratta monolaterale, l'accurato esame previa dilatazione rivela quasi sempre la presenza di un processo di opacizzazione anche a carico dell'occhio controlaterale (8).

### 3) GLI INTERVENTI CHIRURGICI

Nel corso degli anni, a partire dal 1970, sono state tentate numerose terapie mediche volte sia alla guarigione della cataratta, che al rallentamento del suo processo evolutivo, ma nessuna si è ancora dimostrata efficace (22, 27). Studi clinici hanno infatti dimostrato che questi farmaci (superossido-dismutasi, paloseina e zinco citrato ascorbato) non hanno, nella migliore delle ipotesi, alcun tipo di effetto (8, 11).

L'unica terapia efficace fino ad ora si è dimostrata l'estrazione chirurgica della lente: essa è stata riportata nel cane nel lontano 1880, ma sembra essere divenuta pratica corrente in oftalmologia veterinaria solo attorno al 1950 (27).

Vi sono fondamentalmente due tipi di tecniche chirurgiche volte alla rimozione della cataratta nel cane, quella intracapsulare in cui si ha la rimozione complessiva del cristallino e della sua capsula, e quella extracapsulare, in cui vengono asportate sia la lente che la capsula anteriore, mentre rimane in sede la capsula posteriore (22).

#### *3a) Estrazione intracapsulare della lente*

L'estrazione intracapsulare comporta l'asportazione della cortecchia e del nucleo della lente all'interno di una capsula lenticolare intatta, attraverso una larga incisione in prossimità del limbo.

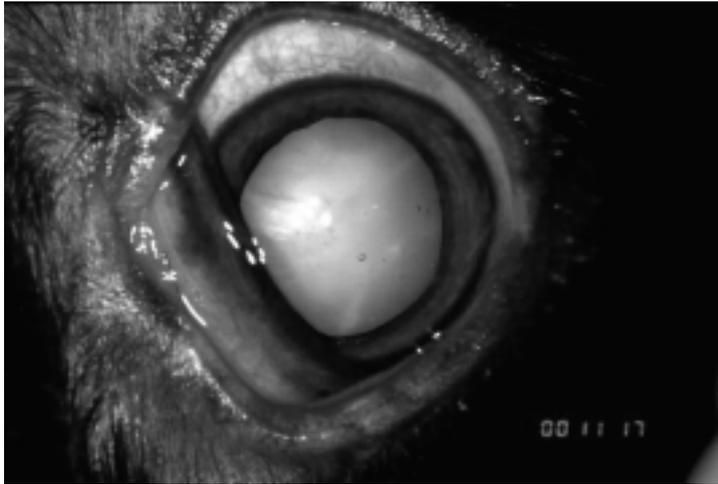


Foto 1: Cataratta ereditaria matura in un Cocker Spaniel Americano



Foto 2: Cataratta monolaterale matura in uno Yorkshire Terrier (occhio destro)

Il cristallino viene rimosso esercitando una contropressione ed usando un'ansa apposita o mediante criosonda. Questo tipo di procedura è stata eseguita piuttosto frequentemente in medicina umana prima dell'avvento e dell'impianto delle lenti intraoculari (IOL). Nel cane esistono non pochi rischi correlati al suo impiego, per cui questo tipo di tecnica viene ora abitualmente impiegato esclusivamente per rimuovere lenti lussate (25).

Nel cane vi è infatti il problema della persistenza di un legamento che unisce il vitreo alla capsula posteriore della lente (legamento ialoideo-capsulare). Conseguentemente, attraverso l'estrazione intracapsulare, è possibile il verificarsi del prolasso della parte anteriore del vitreo seguito, a volte, nel post-operatorio, da distacco retinico ed emorragie coroidali. Un altro problema è dato inoltre dalla necessità di rompere le fibre zonulari del cristallino prima che la lente intatta possa essere estratta dall'occhio (4, 8, 22, 25).

L'unico vantaggio di questa tecnica consiste nel fatto che, venendo rimossa l'intera lente, non si possono verificare opacità post-operatorie, né perdite di proteine da parte del cristallino durante l'estrazione (20, 25).

### *3b) Estrazione extracapsulare della lente*

Per l'intervento di estrazione extracapsulare della lente, viene eseguita un'incisione a livello della cornea o in prossimità del limbo, si procede quindi ad asportazione della capsula anteriore e si prosegue estraendo cortecchia e nucleo nella loro totalità. Il vantaggio di questa tecnica è dato dal fatto che non implica la rottura della zonula, evitando traumi, difficoltà e possibili emorragie (20). La capsula posteriore lasciata *in situ* elimina poi il rischio di eventuali spostamenti del vitreo (20).

Gli svantaggi di questa metodica sono dati dalla possibilità che si formi un'opacità sulla capsula posteriore (cataratta secondaria) e che il materiale lenticolare libero nel segmento anteriore dell'occhio possa provocare un'uveite (20).

La lunga incisione necessaria per eseguire questo tipo di procedura (180°-190° circa dell'intera circonferenza della cornea) (30), causa poi il collasso dell'occhio e scatena quasi sempre una violenta reazione uveitica difficile da controllare nell'immediato post-operatorio (8).

## 4) L'ANESTESIA

Per quanto riguarda l'anestesia, l'uso di bloccanti neuromuscolari come il pancuronio o l'atracurio ha agevolato molto l'intervento chirurgico per cataratta in questi ultimi anni. Questi agenti, infatti, consentono all'occhio di essere posizionato centralmente, senza alcun movimento, durante l'operazione, danno la possibilità di tenere il paziente in un piano di anestesia non troppo profondo e, attraverso la paralisi dei muscoli extraoculari, rendono molto meno probabile l'eventuale prolasso del vitreo (8, 14, 18, 23, 29, 30).

## 5) LA SELEZIONE DEL PAZIENTE

L'intervento di estrazione chirurgica del cristallino catarattoso è sicuramente una procedura elettiva, quindi, prima di prenderlo in considerazione, bisogna assicurarsi che le condizioni di salute del paziente siano buone. In ogni paziente, prima dell'intervento, devono essere eseguiti una visita clinica accurata, un controllo emocromocitometrico ed un profilo biochimico completo. Nei cani diabetici, inoltre, la glicemia deve essere ben regolata e stabile prima che l'intervento chirurgico possa essere considerato sicuro (27).



Foto 3: Cataratta ipermatura in un Segugio Italiano

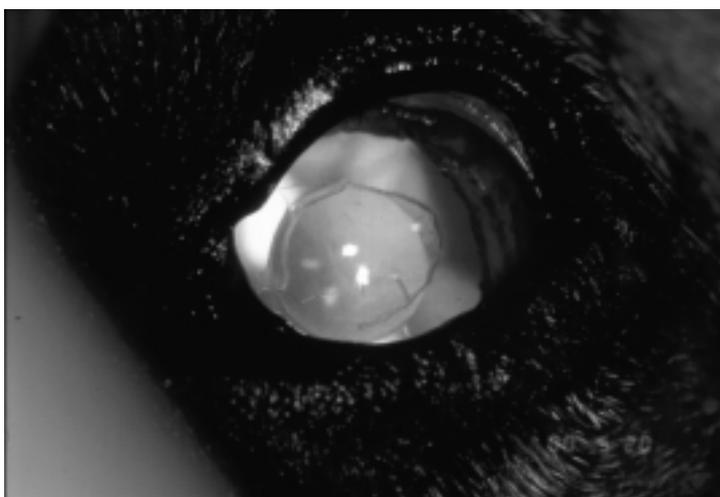


Foto 4: Impianto di una lente intraoculare (IOL) pieghevole a 2 mesi dall'intervento

L'esame oculare deve essere preciso e completo, devono essere valutati la reazione di ammiccamento alla minaccia, i riflessi pupillari diretti ed indiretti e la produzione lacrimale mediante test di Schirmer (STT). Devono essere eseguiti il test di colorazione mediante fluoresceina, la valutazione della pressione intraoculare (IOP) mediante tonometria per appianazione o per indentazione e, se indicata, la valutazione dell'angolo iridocorneale (gonioscopia) (27). Se il fondo non è visibile per la cata-

ratta è necessario eseguire un'elettroretinografia (ERG) per valutare la funzionalità retinica ed un esame ecografico per controllare l'eventuale presenza di un distacco a carico della retina (11, 23).

Vi sono molte malattie oculari che bisogna necessariamente controllare o escludere, poiché potrebbero complicare l'intervento chirurgico di cataratta e renderlo addirittura inutile. Tra queste cheratiti, cheratocongiuntivite secca (KCS), uveiti, glaucoma, lussazione o sublussazione della lente, distacchi retinici e patologie a carico della retina quali SARD (sudden acquired retinal degeneration) e PRA (atrofia progressiva della retina) (8, 25, 27, 30).

Un ultimo criterio per la selezione del paziente è il carattere dell'animale. I cani vanno controllati molto spesso dopo l'intervento, fino a sei-dodici mesi dall'operazione, al fine di valutare l'evoluzione dell'uveite post-operatoria ed i possibili rialzi pressori intraoculari. Inoltre, sia pre- che post-operatoriamente è necessario eseguire una terapia farmacologica sia topica che sistemica piuttosto impegnativa sia per l'animale che per il proprietario. Quindi, se il paziente è aggressivo ed intrattabile, o si oppone alle nostre manipolazioni durante la visita, corriamo il rischio di causare un trauma a carico dell'occhio operato ogni qual volta lo si esamina o vengono eseguite le terapie mediche. Inoltre, se le terapie non vengono eseguite correttamente e con la frequenza necessaria, vi è il rischio di andare a compromettere anche il risultato dello stesso intervento chirurgico (25, 27).

Per questo motivo l'intervento chirurgico, spesso complicato dalla mancata collaborazione del paziente o del proprietario, può essere onestamente consigliato solo in un limitato numero di casi dopo un'attenta selezione.

## 6) LA FACOEMULSIFICAZIONE E L'IMPIANTO DI LENTI INTRAOCULARI (IOL)

### 6a) *La facoemulsificazione*

In oftalmologia umana, due procedure, la facoemulsificazione ed il posizionamento di lenti intraoculari, hanno rivoluzionato la chirurgia della cataratta. La facoemulsificazione, infatti, consente l'asportazione della lente mediante una piccola incisione chirurgica e permette di ridurre ai minimi termini l'invasività chirurgica (17, 23).

La rimozione del cristallino catarattoso mediante l'utilizzo di apparecchiature di frammentazione ultrasoniche è stata ideata ed impiegata per la prima volta nel 1967 da Charles Kelman (6). Nonostante il notevole apprezzamento mostrato nei confronti di una tecnica così originale, questa metodica è rimasta una procedura elitaria per circa 20 anni e ritenuta responsabile di una maggiore incidenza di complicazioni intra- e post-operatorie rispetto alla tecnica di estrazione extracapsulare (3, 17). Dal 1988 ad oggi vi è stata una progressiva crescita nell'impiego di questa tecnica in medicina umana, tanto che ora essa rappresenta la metodica di elezione per la rimozione della cataratta.

Questa procedura, sperimentata in medicina veterinaria nel cane, nel gatto, nel cavallo e nei rapaci, utilizza gli ultrasuoni per frammentare il materiale lenticolare che viene in seguito asportato tramite un sistema di aspirazione (15). Durante l'in-



Foto 5: Complicanza post-operatoria: danno endoteliale in un Samoiedo dopo intervento di facoemulsificazione

tervento chirurgico, l'occhio viene mantenuto irrigato tramite una porta di irrigazione situata sulla punta del facoemulsificatore. Per l'infusione continua vengono solitamente utilizzati Ringer Lattato o Soluzione Salina Bilanciata (BSS) addizionati con una soluzione di eparina al fine di ridurre la formazione di coaguli di fibrina in camera anteriore (15).

Si pratica una prima incisione corneale a due terzi della sua profondità e ad 1-2 mm da limbo mediante una lama Beaver n. 64. Tale incisione effettuata ad ore 11 si estende per circa 4-5 mm in lunghezza ed ha un'angolazione di circa 90° rispetto al piano corneale (15). Successivamente con una lancetta da facoemulsificazione (diametro 3,2 mm) si penetra in camera anteriore mantenendo con il piano della cornea un angolo di lavoro acuto. Subito dopo si inietta attraverso la ferita chirurgica della sostanza viscoelastica che può essere idrossipropilmetilcellulosa (HPMC) al 2%, ialuronato di sodio all'1% o sodio condroitin-solfato al 4% per mantenere una certa pressione in camera anteriore e proteggere l'endotelio durante la facoemulsificazione (10, 11, 12, 15, 29, 30).

Se si vuole eseguire una facoframmentazione extracapsulare della lente si lacera e si rimuove la capsula anteriore del cristallino (capsuloressi). Nel caso in cui si voglia invece eseguire una facoframmentazione endocapsulare (o intercapsulare) viene eseguita solamente una piccola incisione nella capsula anteriore (9). Questa tecnica, rispetto alla facoemulsificazione extracapsulare, ha il vantaggio di produrre minore turbolenza in camera anteriore e quindi minor danno a livello endoteliale (11, 28).

La punta ad ultrasuoni in titanio, del diametro esterno di 1 mm (1,60 mm con la guaina in silicone), viene allora inserita in camera anteriore e si procede alla frammentazione del nucleo e della corteccia ed alla contemporanea aspirazione dei frammenti (8).

La sonda del facoemulsificatore viene utilizzata con una punta angolata a 45°, la potenza di lavoro oscilla tra il 10% ed il 100% a seconda della durezza del cristallino (13, 19). La facoemulsificazione viene effettuata con movimenti in senso prossimo-distale, tenendo la punta del manipolo ben lontana dall'endotelio corneale, dall'iride e dalla capsula posteriore. La tecnica più comunemente usata per la facoemulsificazione nel cane è la cosiddetta "dividi e conquista". Attraverso questa tecnica si scava prima nella porzione centrale della lente, poi il cristallino viene diviso in due metà ed ogni metà in due quarti, si procede quindi alla frammentazione ed all'aspirazione di ogni quarto della lente. Vi sono alcune varianti di questa tecnica tra cui le più famose sono la "faco chop" e la "stop and chop" (14).

Terminata la frammentazione viene eseguita la rimozione delle masse corticali rimanenti mediante l'apparecchio I/A (infusione/aspirazione) (15, 18, 19). Anche il materiale viscoelastico andrebbe rimosso prima della chiusura della camera anteriore per impedire eventuali rialzi pressori post-operatori causati dal suo elevato peso molecolare (12, 28, 29).

Per quanto riguarda il materiale di sutura, sia in medicina umana che in veterinaria, il polyglactin 910 (USP 8/0-9/0) rappresenta un'ottima alternativa al più tradizionale filo in nylon nella chirurgia routinaria della cataratta. Questo filo, infatti, presenta un'ottima maneggevolezza, ma soprattutto scarsa reazione tissutale e buona tollerabilità da parte dei pazienti (5).

La facoemulsificazione ha il vantaggio di impedire il completo collasso della camera anteriore, consente un più veloce recupero visivo e riduce i problemi correlati all'astigmatismo e al dolore post-operatorio; inoltre le cicatrici corneali sono notevolmente più piccole e si hanno minori rischi di deiscenza della ferita (4, 10, 15, 28). Nel post-operatorio si hanno poi una maggiore trasparenza della cornea dovuta al minor danno a carico delle cellule endoteliali corneali e minori rischi di uveite dovuti al fatto che l'occhio viene meno traumatizzato e che solitamente tutto il materiale lenticolare può essere asportato senza problemi (8, 15).

Per contro, gli svantaggi di questa procedura sono rappresentati fondamentalmente dalla difficoltà tecnica e dal costo delle attrezzature (15, 28). Qualche difficoltà si ha pure nel caso in cui ci si trovi di fronte ad una lente molto dura, frequente in cani di età avanzata: questo poiché il maggior tempo impiegato nella frammentazione della lente può essere causa di una più intensa uveite (8).

Le complicanze intra-operatorie comprendono miosi, ifema, lussazione del cristallino in camera anteriore, possibili rotture della capsula posteriore, prolasso del vitreo e migrazione di materiale lenticolare all'interno del vitreo stesso (11, 14, 18, 28). In uno studio di Nassis et al. del 1991, la rottura della capsula posteriore durante l'intervento di facoemulsificazione viene riportata come la complicanza più frequente, la percentuale risulta infatti del 16,5% su un campione di ben 182 casi sottoposti ad intervento chirurgico (18).

Con la tecnica endocapsulare, rispetto a quella extracapsulare, si crea sicuramente una minore turbolenza in camera anteriore dovuta a rottura della lente, quindi un conseguente danno corneale endoteliale di minore entità. Tuttavia, un problema di questa tecnica è dato dall'opacizzazione della capsula anteriore causata dalla conseguente proliferazione di fibre lenticolari al di sotto della capsula stessa (8).

### 6b) *Le lenti intraoculari (IOL)*

L'industria delle lenti intraoculari ha da poco compiuto trent'anni ed è alla continua ricerca di una lente che riproduca le caratteristiche del cristallino. Il disegno e la manifattura delle lenti hanno seguito di pari passo le tecniche di estrazione e la sede anatomica di posizionamento. La facoemulsificazione e la capsuloressi circolare hanno consentito lo sviluppo di lenti capsulari con agevole impianto anche attraverso una capsuloressi piccola. All'inizio, infatti, in medicina umana risultava poco produttivo eseguire la rimozione della lente attraverso un'incisione di 3,2 mm, poi ampliata a 6,5 o 8 mm per inserire la IOL. Negli anni 80 le IOL flessibili e pieghevoli erano ancora in via sperimentale (3, 10, 28). Le prime lenti ideate ed usate anche in medicina veterinaria erano monopezzo (6-7 mm) in polimetil-metacrilato (PMMA) (9); i primi risultati importanti riguardanti l'impianto di queste lenti intraoculari nel cane si sono avuti nel 1991 (6, 18, 19).

Ultimamente, anche negli animali si stanno usando lenti in materiale pieghevole (silicone, acrilico) che possono essere impiantate addirittura attraverso incisioni inferiori ai 5 mm (10).

Inizialmente, attraverso biometria e cheratometria si era visto che l'occhio del cane richiedeva lenti da 30 a 40 D (diottrie), poi, in seguito ad ulteriori misurazioni attraverso retinoscopio, si è giunti alla conclusione che il potere diottrico ottimale per le lenti intraoculari nel cane è di 41 D (10, 14).

In cani in cui il cristallino asportato non viene sostituito dall'impianto della lente intraoculare atta a correggere il difetto di rifrazione, si ha una visione iperopica rispetto alla visione normale ed è questo il motivo per il quale gli animali afachici hanno problemi a vedere piccoli oggetti posti vicino a loro (8).

### 7) LE COMPLICANZE POST-OPERATORIE

Le complicanze chirurgiche dell'intervento di cataratta possono comparire da pochi giorni a parecchi anni dopo la rimozione del cristallino. Per questo motivo i pazienti vengono controllati frequentemente per parecchi mesi dopo l'intervento. Un controllo a lungo termine, ogni sei mesi, viene mantenuto per tutta la vita.

Esistono numerosi potenziali problemi post-operatori, qualunque sia il metodo chirurgico utilizzato. Queste possibili complicanze sono l'ifema, l'uveite, il glaucoma, il danno endoteliale, le opacità capsulari ed i distacchi retinici (4, 6, 7, 17, 19 30). In uno studio eseguito da Bagley e Lavach nel 1994 emerge come le complicanze post-operatorie siano le stesse e della stessa entità in cani operati mediante facoemulsificazione sia diabetici che non (2).

L'ifema e le emorragie vitreali possono verificarsi sia durante che dopo l'intervento di estrazione del cristallino. Le cause sono date da un possibile sanguinamento a livello del sito di incisione, da tensione a livello dei corpi ciliari, da improvvisi cambiamenti della pressione intraoculare, contatto degli strumenti con il tessuto uveale o strappi a carico della retina (11).

L'uveite è sicuramente il più grave problema da affrontare dopo l'intervento di chirurgia della cataratta. Infatti, in camera anteriore si possono osservare fibrina e corpuscoli in sospensione, la pupilla può diventare miotica (nonostante l'uso dell'atropina topica) e possono svilupparsi sinechie posteriori (28). In alcuni soggetti un'u-

veite di basso grado può persistere addirittura per parecchi mesi dopo l'intervento. L'uveite pre-operatoria lente-indotta, inoltre, nonostante non rappresenti una controindicazione all'intervento chirurgico, tuttavia può diminuirne la percentuale di successo (8, 14). Per questo motivo, molto spesso, i pazienti vengono sottoposti ad un trattamento pre-operatorio topico con corticosteroidi al fine di controllare il più possibile l'infiammazione intraoculare (7, 28).

In bibliografia emerge come nel decorso post-operatorio in circa il 37-48 % dei pazienti sia frequente un rialzo pressorio definito con il termine ipertensione oculare post-operatoria (POH), che in genere si verifica entro alcune ore dall'intervento chirurgico e di solito si risolve in ventiquattr'ore (8, 17, 24). Nella nostra esperienza personale si è verificato un aumento pressorio post-operatorio nel 40% dei pazienti sottoposti ad intervento di facoemulsificazione. Questo non è da considerarsi un vero glaucoma, evento in genere possibile dopo mesi o anni dalla chirurgia e a volte responsabile dell'insuccesso chirurgico (11).

Il danno a carico dell'endotelio corneale è un problema comune in caso di qualsiasi procedura intraoculare, poiché l'endotelio non si rigenera. Se viene distrutto un discreto numero di cellule endoteliali durante l'intervento, come conseguenza diretta si crea un edema corneale persistente. La durata di utilizzo degli ultrasuoni sembra interferire con l'entità dell'infiammazione post-operatoria ma non con quella del danno endoteliale (16). Gran parte del danno, infatti, sembra essere fondamentalmente indotto dall'azione traumatica provocata dai frammenti della lente a carico dell'endotelio e dal possibile contatto di strumenti, punte ed aghi con la superficie interna della cornea (8, 16, 17). E' stato comunque dimostrato che il danno endoteliale durante l'intervento di cataratta è sicuramente maggiore con la tecnica di estrazione chirurgica extracapsulare piuttosto che con la facoemulsificazione (16).

A questo proposito, da sempre, sono state impiegate sostanze viscoelastiche al fine di proteggere l'endotelio dal trauma meccanico provocato durante l'intervento chirurgico, tamponare eventuali emorragie e mantenere costante il volume della camera anteriore permettendo al chirurgo di avere maggior spazio per le manualità chirurgiche (29, 30).

Dopo l'intervento chirurgico esiste la possibilità che si sviluppino opacità a carico della capsula anteriore e posteriore conseguenti al deposito di tessuto fibroso in questa sede. Tali opacità possono potenzialmente predisporre il cane alla cecità (8).

L'ultima complicanza post-operatoria che si può avere nel cane in seguito all'intervento di facoemulsificazione è la comparsa di distacchi retinici regmatogeni (con lacerazione della retina) con conseguente cecità definitiva (6, 8, 27). In uno studio del 1991 (30) viene riportata una percentuale di distacchi pari al 23% associata ad estrazione extracapsulare della lente, mentre solo del 4%-5% in caso di facoemulsificazione (28). Parecchi studi sono stati fatti nel tentativo di risolvere questi distacchi mediante trattamenti chirurgici, ma i successi relativi ad un recupero della visione sono molto bassi, specialmente quando l'area retinica distaccata si presenta ampia (30).

## 8) CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

Nel corso degli anni sono stati pubblicati vari risultati riguardanti la percentuale di successo dopo l'intervento chirurgico di estrazione della lente interessata da cata-

ratta nel cane. Questo, tenendo presente che per successo dell'intervento chirurgico si intende chiaramente il ritorno dell'animale ad una visione funzionale.

Questi risultati hanno dimostrato come a breve termine l'intervento sia molto soddisfacente e che, a lunga scadenza, i risultati siano da considerarsi soddisfacenti (8). In particolare, in uno studio del 1985 su 53 cani, Paulsen et al. riferiscono una percentuale di successo dell'83% a 6 settimane dall'intervento di asportazione extracapsulare della lente, questa percentuale risulta del 69% a 6 mesi e scende fino al 38% dopo 23 mesi dall'intervento. Similmente, sempre in uno studio del 1985 su ben 240 cani, Rooks et al. riportano una percentuale di successo del 79% a sei settimane dall'intervento (21). Miller et al., invece, riportano, in uno studio del 1987 eseguito su 56 cani sottoposti all'intervento di facoemulsificazione, una percentuale di successo del 95% a 2 settimane dall'intervento; la percentuale scende poi all'86% dopo 2 anni e al 71% a 4 anni di distanza (8, 17). Questo ci dimostra ancora una volta come, attraverso l'evoluzione nel campo dello strumentario e delle tecniche chirurgiche, le possibilità di successo siano, nel corso degli anni, di gran lunga aumentate.

La facoemulsificazione è attualmente, il tipo di intervento chirurgico preferito per quanto riguarda l'estrazione del cristallino interessato da cataratta. Uno studio di Taylor et al. (1995) dimostra inoltre come l'incidenza di contaminazioni batteriche intraoculari sia sei volte maggiore nei cani sottoposti ad intervento tradizionale extracapsulare o intracapsulare rispetto ai pazienti operati mediante facoemulsificazione (26).

Un altro aspetto da sottolineare è che attualmente la tendenza degli oftalmologi veterinari è quella di rimuovere la cataratta in fase più precoce, allo stadio immaturo, rispetto al passato in cui si tendevano ad operare solo occhi del tutto privi della visione (27). Questo permette di eseguire interventi più rapidi, meno invasivi e diminuisce il rischio di complicanze post-operatorie.

La percentuale di successo dell'intervento chirurgico varia, quindi, in base alle caratteristiche della cataratta, al tipo di tecnica usata, nonché alla cooperazione del paziente e del suo proprietario (25).

Un ulteriore aspetto da non sottovalutare riguarda la prevenzione. L'incidenza delle cataratte ereditarie, infatti, può essere ridotta evitando di accoppiare tra loro animali malati o portatori. Sarebbe auspicabile un controllo oculistico sistematico di tutti i riproduttori onde ridurre l'incidenza delle malattie oculari ereditarie (25).

**Parole chiave:** cane, cristallino, lente, cataratta, chirurgia, facoemulsificazione

**RIASSUNTO** - Gli autori fanno un excursus delle tecniche chirurgiche che si sono sperimentate nel corso degli anni relativamente all'intervento di estrazione della lente interessata da cataratta nel cane.

Vengono descritte le tipologie delle varie cataratte, gli interventi tradizionali intra- ed extra-capsulari e la più moderna tecnica di facoemulsificazione unitamente all'impiego delle lenti intraoculari (IOL). Vengono inoltre prese in considerazione l'anestesia, la selezione del paziente e le complicanze post-operatorie in corso di intervento di cataratta.

## *Bibliografia*

1. Arcelli R., Moriconi F., Gialletti R., Di Meo A., Pepe M., Bellezza E.: Facoemulsificazione nella chirurgia della cataratta del cane: esperienza di due anni. Atti SICV, 1997, 228-234.
2. Bagley L.H., Lavach J.D.: Comparison of postoperative phacoemulsification results in dogs with and without diabetes mellitus: 153 cases (1991-1992). J. Am. Vet. Med. Assoc., 1994, 205, 8, 1165-1169.
3. Caporossi A., Baiocchi S., Simi C.: La facoemulsificazione oggi. Rivista di oftalmologia, 1994, 2-3, 23-29.
4. Chaudieu G., Molon-Noblot S.: Le cristallin. Prat. Méd. Chir. Anim. Comp., 1997, 32, 169-191.
5. D'Eliseo D., Acciarri R., Dattilo G., Pirazzoli G.: Valutazione del polyglactin 910 10-0 nella chirurgia della cataratta con approccio temporale in cornea chiara. Rivista di oftalmologia, 1996, 2, 27-29.
6. Davidson M.G., Nasisse M.P., Jamieson V.E., English R.V., Olivero D.K.: Phacoemulsification and Intraocular Lens Implantation: A Study of Surgical Results in 182 Dogs. Prog. in Vet. & Comp. Opht., 1991, 1, 4, 233-238.
7. Davidson M.G., Nasisse M.P., Rusnak I.M., Corbett W.T., English R.V.: Success Rates of Unilateral vs. Bilateral Cataract Extraction in Dogs. Vet. Surg., 1990, 19, 3, 232-236.
8. Dziezyc J.: Cataract Surgery. Current Approaches. Vet. Clin. of North Am.: Small Anim. Pract., 1990, 20, 3, 737-754.
9. Gaidon J.: Actualités en phaco émulsification endocapsulaire et correction de l'aphakie chez le chien par cristallin artificiel de chambre postérieure: le dog-lens. Prat. Méd. et Chir. de L'Anim. de Comp., 1989, 24, 4, 549-554.
10. Gaidon J.A., Lallement P.E., Peiffer R.L.: Implantation of a foldable intraocular lens in dogs. J. Am. Vet. Med. Assoc., 2000, 216, 6, 875-877.
11. Gelatt K.N.: Veterinary ophthalmology. 3 rd ed. Philadelphia, Lea & Febiger, 797-856, 1999.
12. Gerding P.A., McLaughlin S.A., Brightman A.H., Essex-Sorlie D., Helper L.C.: Effects of intracameral injection of viscoelastic solutions on intraocular pressure in dogs. Am. J. Vet. Res., 1989, 50, 5, 624-628.
13. Gilger B.C.: Phacoemulsification. Technology and Fundamentals. Vet. Clin. of North Am.: Small Anim. Pract., 1997, 27, 5, 1131-1141.
14. Glover T.D., Constantinescu G.M.: Surgery for cataracts. Vet. Clin. of North Am.: Small Anim. Pract., 1997, 27, 5, 1143-1173.
15. Guandalini A.: Intervento di chirurgia della cataratta mediante facoemulsificazione nel cane (studio preliminare sulla tecnica). Boll. AIVPA, 1994, 187-192.
16. Gwin R.M., Warren J.K., Samuelson D.A., Gum G.G.: Effects of Phacoemulsification and Extracapsular Lens Removal on Corneal Thickness and Endothelial Cell Density in the Dog. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1983, 24, 227-236.

17. Miller T.R., Whitley R.D., Meek L.A., Garcia G.A., Wilson M.C., Rawls B.H.: Phacofragmentation and aspiration for cataract extraction in dogs: 56 cases (180-1984). *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1987, 190, 12, 1577-1580.
18. Nasisse M.P., Davidson M.G., Jamieson V.E., English R.V., Olivero D.K.: Phacoemulsification and Intraocular Lens Implantation: A Study of Technique in 182 Dogs. *Prog. in Vet. & Comp. Opht.*, 1991, 1, 4, 225-232.
19. Peiffer R.L., Gaiddon J.: Posterior Chamber Intraocular Lens Implantation in the Dog: Results of 65 Implants in 61 Patients. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, 1991, 27, 453-462.
20. Peruccio C.: *Atlante di oftalmologia veterinaria*. Torino, Ed. Medico Scientifiche, 1985, 354-357.
21. Rooks R.L., Brightman A.H., Musselman E.E., Helper L.C., Magrane W.G.: Extracapsular cataract extraction: An analysis of 240 operations in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1985, 187, 10, 1013-1015.
22. Severin G.A.: *Manuale di oftalmologia veterinaria*. Ed. SCIVAC, 1990, 165-172.
23. Severin G.A.: *Veterinary ophthalmology notes*. 2 nd ed. Ft. Collins, Colorado State University, 1996, 386-401.
24. Smith P.J., Brooks D.E., Lazarus J.A., Kubilis P.S., Gelatt K.N.: Ocular hypertension following cataract surgery in dogs: 139 cases (1992-1993). *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1996, 209, 1, 1, 105-111.
25. Stades F.C., Wyman M., Boevé M.H., Neumann W. *Ophthalmology for the Veterinary Practitioner*. Hannover, Schlütersche GmbH & Co., 159-165, 1998.
26. Taylor M.M., Kern T.J., Riis R.C., McDonough P.L., Erb H.N.: Intraocular bacterial contamination during cataract surgery in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1995, 206, 11, 1, 1716-1720.
27. Whitley R.D., McLaughlin S.A., Whitley E., Gilger B.C.: Cataract removal in dogs: The presurgical considerations. *Vet. Med.*, 1993, 848-858.
28. Whitley R.D., McLaughlin S.A., Whitley E., Gilger B.C.: Cataract removal in dogs: The surgical techniques. *Vet. Med.*, 1993, 859-866.
29. Wilkie D.A., Willis A.M.: Viscoelastic materials in veterinary ophthalmology. *Vet. Opht.*, 1999, 2, 3, 147-153.
30. Williams D.L., Boydell P.I., Long R.D.: Current concepts in the management of canine cataract: a survey of techniques used by surgeons in Britain, Europe, and the USA and a review of recent literature. *Vet. Rec.*, 1996, 138, 347-353.

## MEDICINA FORENSE VETERINARIA E LESIONI DA ARMA DA FUOCO: CARATTERI E DIAGNOSI

A. Corradi<sup>1</sup>, A. Luppi<sup>1</sup>, E. Pittioni<sup>2</sup>

### *Premessa*

In ambito medico-veterinario il rilievo di lesioni d'arma da fuoco, accidentali o dolose, non è evento frequente ma, quando si verifica, deve essere valutato con particolare attenzione per gli sviluppi che può presentare in ambito penale.

Il perito settore veterinario, infatti, quando è chiamato ad eseguire una perizia su un animale con lesioni sospette d'arma da fuoco, deve condurre l'indagine tecnica, le verifiche e gli accertamenti che consentano di fornire, agli interessati, i dati ed i consigli utili per essere in grado di prendere decisioni opportune.

A questo scopo è fondamentale la conoscenza degli aspetti tecnici generali che riguarda le armi da fuoco, la composizione e la forma delle cartucce, la balistica (interna, esterna e terminale) ed i caratteri delle lesioni d'arma da fuoco, per una corretta valutazione anatomopatologica delle lesioni osservate, in modo che il giudizio sia il risultato d'elementi certi e sia formulato in termini precisi, senza che questo possa essere oggetto d'interpretazioni personali.

### *Le armi da fuoco*

Le armi da fuoco sono congegni meccanici aventi la funzione di lanciare a distanza con gran velocità masse pesanti (proiettili), utilizzando l'energia dei gas sviluppati dall'accensione di sostanze esplosive (polveri). Le armi da fuoco si distinguono in due grandi categorie: le armi da artiglieria e le armi portatili. Queste a loro volta si dividono in armi a canna lunga ed armi a canna corta. Ogni canna ha una lunghezza e un diametro interno (calibro), una conveniente resistenza delle pareti metalliche, un'estremità posteriore (culatta) e un'anteriore (volata) dove è situata la bocca. La parte interna (anima) può avere pareti lisce come nei fucili da caccia, o possedere dei solchi elicoidali (rigatura), destinati ad imprimere ai proiettili di forma oblunga un rapido movimento rotatorio intorno al loro asse meccanico per aumentare la stabilità della traiettoria. Il calibro, stabilito in base al diametro dell'anima ed espresso in millimetri, varia nei vari tipi d'arma. Per i fucili da caccia il calibro, che si misura in *gauge*, è determinato secondo un antico metodo e corrisponde al numero di palle di piombo, passanti esattamente per la canna, che entrano nel peso di una libbra (1).

---

<sup>1</sup> Dipartimento di Salute Animale, Sez. Patologia Generale ed Anatomia Patologica Veterinaria

<sup>2</sup> Libero Professionista - Udine

### *Composizione e forma delle cartucce*

Una cartuccia è solitamente costituita da quattro elementi base: l'innesco, il bossolo, la polvere ed il proiettile. Il processo dello "sparo" si articola in tre tempi: accensione; combustione ed espansione. Il proiettile subisce un iniziale spostamento lungo la canna al momento della prima formazione di gas, quindi la sua velocità aumenta fino alla completa combustione della carica. Uscito dalla bocca dell'arma, il proiettile, riceverà un'ultima azione dai gas che si espandono bruscamente alla pressione atmosferica e per i primi due - tre metri nelle armi portatili aumenta ancora di un poco la sua velocità, mentre i gas nell'espansione producono il rumore di scoppio e con moti vorticosi disperdono nell'aria il calore e l'energia cinetica residua. A titolo d'esempio, per rendere l'idea della potenza che si sprigiona dall'ignizione della polvere, nei fucili da guerra si raggiungono, nella canna, pressioni dell'ordine di 3500-4000 atmosfere, oltrepassando le 5000 in alcune carabine da caccia; nelle pistole più potenti si hanno 2200-2500 atmosfere per scendere a 1000-1700 in quelle comuni; nei fucili da caccia solitamente non si superano le 600 atm. (5).

### *Proiettili*

Nei proiettili delle armi portatili, aventi forma cilindrico-conica o cilindro-ogivale, si distinguono l'ogiva, corrispondente all'estremità anteriore, cupoliforme od appuntita, che facilita la penetrazione nel bersaglio e diminuisce la resistenza nell'aria; la base, circolare, piana o leggermente depressa, sulla quale si ripartisce la pressione dei gas; il peso, che oscilla tra i 5 e 10 grammi e condiziona, assieme alla velocità, la forza viva del proiettile. La composizione di un comune proiettile è data da una lega di piombo (90%) e antimonio (10%), quest'ultimo utilizzato come indurente, anche se, talvolta entrano nella lega anche lo zinco, il magnesio e la plastica. Solitamente il proiettile possiede un'anima ed un'incamiciatura esterna in materiale più duro. L'incamiciatura può essere totale (full metal jacketed) o parziale, nell'ultimo caso si avranno i così detti proiettili esplosivi o dum-dum, vietati dalle convenzioni internazionali (9).

Diverso è, per funzione e forma, il proiettile del fucile da caccia, il quale dev'essere in grado di colpire veloci volatili e piccoli animali. Per questo nei fucili da caccia il proiettile non è singolo ma è dato da un certo numero di pallini di piombo. Questi si trovano nella cartuccia in numero diverso secondo il calibro e al momento dello sparo sono proiettati fuori della canna (Fig. 1). Una volta lanciati i pallini tendono a disporsi su una traiettoria conica poiché la resistenza dell'aria fa sì che, usciti dall'arma come corpo unico, essi costituiscano la così detta rosa, il cui diametro è proporzionale alla distanza dalla bocca di fuoco. A proposito del numero, si è già affermato che esso dipende dal calibro, così una libbra di pallini del n° 8 contiene un numero quadruplo rispetto a quello che si avrebbe con pallini del n° 2.

### *Balistica*

La balistica è la scienza che studia il moto di un proiettile durante il tragitto all'interno della canna (balistica interna), la traiettoria fuori dell'arma (balistica esterna) e gli effetti sul bersaglio (balistica terminale).

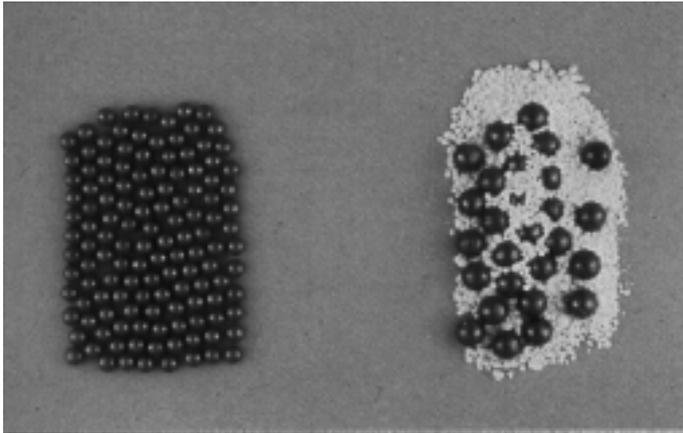


Fig. 1: esempi di pallini da caccia di diverso calibro.

### *Balistica interna*

I moderni fucili presentano all'interno della canna delle rigature elicoidali che imprimono al proiettile un moto circolare sul proprio asse longitudinale, stabilizzandone la traiettoria e aumentandone il potere penetrativo. Nei fucili da caccia caricati a pallini, invece, la canna è liscia e i pallini al suo interno si muovono come un corpo unico.

### *Balistica esterna*

Il proiettile sparato esce dalla canna a grandissima velocità, ciò lo rende soggetto a forze aerodinamiche che rendono instabile il suo volo (Fig. 2). Tali effetti includono (15):

- 1) deviazione del proiettile sul suo asse longitudinale.
- 2) rotazione in avanti attorno al centro di massa.
- 3) precessione: vibrazione circolare attorno al centro di massa.

Con il termine “*limite di gittata*” dell'arma s'intende la distanza tra il punto da dove il proiettile è sparato e quello in cui questo non presenta più forza viva, per il rallentamento che subisce a causa delle forze aerodinamiche. Oltre al limite di gittata è bene conoscere anche la *velocità iniziale* del proiettile, in altre parole la velocità del proiettile appena uscito dall'arma (fucili da caccia 350 -400 metri/secondo, fucili da guerra 600-950 m/sec., pistole 230-430 m/sec.); la *velocità residua* che è quella posseduta ad una certa distanza (nei fucili da caccia dopo circa 15 metri la velocità dei pallini è ridotta di un quarto); la *potenza dell'arma* intesa come la capacità di imprimere al proiettile una minore o maggiore energia cinetica (EK); il *potere di penetrazione* del colpo che è direttamente proporzionale all'EK ed inversamente proporzionale all'area della sezione trasversale del proiettile. L'*azione vulnerante* è invece la capacità del proiettile di determinare lesioni sul bersaglio e va tenuta distinta dal potere di penetrazione perché, a parità di EK, gli effetti vulneranti saranno tanto più

### Deviazione del proiettile sul suo asse longitudinale



### Rotazione in avanti attorno al centro di massa



Fig. 2: esempi di balistica esterna.

gravi quanto più grande è la sezione del proiettile. Il *potere di arresto* è l'azione utile immediatamente impressa dal colpo sul bersaglio vivente o semovente, ed è data dalla scarica di EK trasmessa dal proiettile e come il potere vulnerante è proporzionale alla sezione del proiettile (3).

### *Balistica terminale*

Un proiettile può penetrare e perforare i tessuti lacerandoli e distruggendoli, creando un'onda di shock e dando luogo alla c.d. cavitazione. Nei colpi a bassa velocità (pistole e fucili da caccia) il trauma dei tessuti è dato soprattutto dalla lacerazione e distruzione provocati dal proiettile. Nei colpi ad alta velocità (fucili da guerra o nei colpi sparati da molto vicino) la pressione d'impatto arriva a 100-200 atmosfere e l'energia trasferita dal proiettile è molto più grande tanto da formare un'onda di shock e la cavitazione (cavità del diametro di circa 30 volte quello del proiettile).

A seguito dell'espansione laterale e craniale del tessuto circostante il tramite forma una pressione negativa con effetto di risucchio che ha la capacità di drenare detriti e contaminanti all'interno della ferita (8) (Fig. 3).

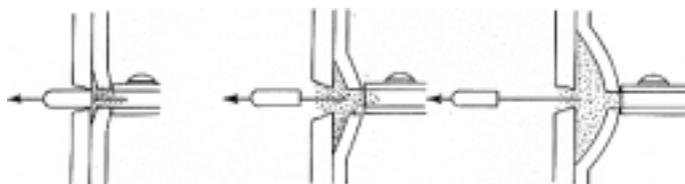


Fig.3: Colpo a distanza ravvicinata: effetto di scoppio.

La traiettoria balistica può essere suddivisa in tre zone:

*Zona di perforazione:* corrisponde al tratto medio della traiettoria balistica ovvero alla distanza utile di tiro per l'arma in esame. La velocità del proiettile è compresa fra 500 e 200 m/sec. L'azione lesiva si riduce alla perforazione ed alla formazione di una ferita.

*Zona di esplosione:* quando la distanza fra bersaglio e arma è ridotta, al momento dell'impatto la velocità del proiettile è assai elevata (700 m/sec.). L'azione lesiva è dilacerante con effetti di scoppio.

*Zona di contusione:* la distanza fra arma e bersaglio è grande, il proiettile possiede una velocità di circa 100 m/sec., non ha più la forza per perforare il bersaglio ma solo quella di determinare una contusione.

Questa distinzione non ha valore assoluto ma vale solo per le armi a canna lunga (fucili da guerra e da caccia) e di grande potenza, mentre le pistole di qualsiasi genere non producono effetti esplosivi neppure alle brevi distanze.

Se l'organo colpito contiene gas o liquidi può esplodere a causa dell'aumento di pressione. Lo stesso fenomeno può essere osservato negli organi parenchimatosi con maggiore irrorazione sanguigna. A carico delle ossa si possono verificare fratture comminute per effetto di scoppio che si ha a livello della cavità diafisaria o, per le ossa craniche, in cavità cranica (10). Oltre alla massa ed alla velocità del proiettile altri tre fattori sono responsabili del potere vulnerante dei colpi d'arma da fuoco: la rotazione del proiettile attorno al suo centro di massa che aumenta la superficie d'impatto, fattori che destabilizzano il tragitto del colpo dando altri movimenti al proiettile e colpi secondari derivanti dalla frammentazione di parti del bersaglio (ad es. frammenti ossei ad alta velocità) o del colpo stesso.

Tabella 1: riassunto della suddivisione della traiettoria balistica per armi a canna lunga.

Zona	Velocità del proiettile in m/sec.	Azione lesiva
Esplosione	700	Dilacerante - effetti di scoppio
Perforazione	200-500	Perforazione – formazione di ferita
Contusione	100	Contusione

### *Effetti lesivi*

Oltre agli effetti lesivi dovuti all'azione diretta del proiettile, per lo studio delle lesioni da arma da fuoco è bene conoscere altri effetti dovuti all'azione diretta dei gas, ai prodotti di combustione della polvere o all'azione di proiettili secondari (4).

### *Effetto dei gas*

La colonna gassosa che si sprigiona dalla canna con forte velocità e sotto alta pressione è in grado di provocare lesioni sia grazie a meccanismo esplosivo sia compressivo. Il primo meccanismo può essere osservato nei colpi esplosi a contatto, dove la maggior parte dei gas penetra nel canale della ferita prodotta dal proiettile e si espande con violenza provocando un forte aumento di pressione nei tessuti che vengono disgregati. Questo avviene solo nelle regioni anatomiche in cui la cute poggia su un piano osseo (cranio) e sono limitati al sottocute. In prossimità della ferita si formano bozze di scollamento e anfrattuosità infiltrate di sangue e di detriti cellulari, sulla cute si producono fenditure raggate partenti dai margini dell'orifizio d'ingresso che così appare come un largo squarcio con margini irregolari e di forma stellata (ferite da scoppio). L'azione compressiva si verifica quando l'arma è tenuta a breve distanza dal piano cutaneo, perciò la colonna di gas urta con violenza sui tessuti contornando un'area circolare od ovalare, situata intorno al foro d'ingresso (2).

### *Effetti della fiamma*

La fiammata che esce dalla bocca della canna al momento dello sparo è dovuta ai residui solidi incandescenti prodotti dalla combustione della polvere, che nei colpi sparati a distanze assai ridotte porta al manifestarsi di effetti calorici sulla cute, con la formazione di una zona di ustione. Tali effetti sono molto evidenti sui peli che appaiono strinati, anneriti, arricciati e fragili.

### *Effetti del fumo*

Il fumo è costituito dai residui solidi carboniosi di combustione della polvere, che, sotto forma di finissime particelle colorate si deposita, quando il colpo è esplosivo nelle vicinanze del bersaglio, sulla cute circostante il foro di ingresso, in un'area circolare od ovalare a contorni netti (zona di affumicatura). Nei colpi esplosi a contatto tale zona si può rilevare nel tratto iniziale del tramite. Trattandosi di una semplice deposizione di materiali la zona di colorazione scompare mediante semplice lavaggio con acqua.

### *Effetti delle polveri*

I residui solidi della polvere, combusto o parzialmente combusto, escono dalla canna animati da notevole forza viva e agiscono come tanti proiettili che vincono la resistenza della cute. Così si forma un'area cutanea, (zona di tatuaggio) circostante il foro di ingresso, con disposizione ovalare o circolare, che a differenza della zona di affumicatura non si deterge con l'acqua ed è documentabile nei preparati istologici per la presenza di molteplici granuli colorati nei tessuti dermo-epidermici. Le particelle non possiedono tutte la stessa forza viva, quindi una parte raggiunge il derma, altre penetrano solo nell'epidermide, altre ancora si depositano semplicemente sulla cute.

### *Effetti dei proiettili secondari*

Si considerano tali i frammenti staccatisi da armi o proiettili difettosi, le impurità solide della polvere, le borre delle cariche dei fucili da caccia (è la parte di plastica o in carta che, nella cartuccia divide la polvere dai pallini) etc. Essi hanno talvolta sufficiente forza viva da produrre escoriazioni, ecchimosi e ferite a tramite generalmente non profondo, situate in prossimità dell'orificio di ingresso. La loro presenza indica che il colpo è stato sparato da vicino.

## **CARATTERI GENERALI DELLE LESIONI DA ARMA DA FUOCO**

### *Lesioni da armi portatili a proiettile unico*

Le lesioni da armi portatili a proiettile unico si distinguono in contusioni e ferite. Le contusioni sono rare ma non del tutto eccezionali e sono costituite da ecchimosi o da escoriazioni su fondo ecchimotico provocate generalmente da colpi sparati da molto lontano perciò il proiettile ha perso quasi completamente la sua forza viva. Tali lesioni si riparano con facilità, anche se talvolta possono generare lacerazioni muscolari, incrinazioni di qualche osso lungo o della teca cranica, contusioni o piccole lacerazioni di organi addominali, dovute alla trasmissione in profondità della forza d'urto. Le ferite si producono, invece, quando il proiettile ha sufficiente forza viva per perforare i tessuti corporei. Si possono distinguere in:

1. Ferite penetranti a fondo cieco, costituite da un foro di ingresso e da un tramite che si arresta nella compagine dei tessuti.
2. Ferite trasfossate trapassanti, nelle quali si distingue un orificio d'entrata un tramite completo e un orificio d'egresso.
3. Ferite a semi canale dovute a colpi che urtano con direzione tangenziale sulla pelle, specialmente su superfici corporee curve, dove si forma un canale incompleto a semicanale (ferite di striscio).
4. Ferite contornanti prodotte da proiettili che assumono un tragitto curvilineo incontrando superfici ossee ricurve, in genere le ossa craniche o la parete toracica sulle quali essi scorrono uscendo poi da un punto lontano.
5. Ferite a setone, sottocutanee che formano un tragitto completo nel sottocutaneo, a bottone di camicia.
6. Ferite da scoppio sotto la quale denominazione si comprendono indifferentemente quelle dovute all'azione espansiva dei gas nel tessuto sottocutaneo o in cavità e quelle provocate dagli effetti esplosivi dei proiettili.

### *Conseguenze delle lesioni*

Nelle ferite d'arma da fuoco, partendo dal centro verso la periferia, si osservano tre distinte zone: un'interna corrispondente alla soluzione di continuo scavata nella compagine dei tessuti; un'intermedia costituita dalle pareti del tragitto formate da tessuti contusi, infiltrati di sangue e necrotici; un'esterna che comprende un'area dove i tessuti, mortificati dall'azione compressiva e dagli effetti laterali del proiettile, presentano scarsa vitalità e sono in preda a fenomeni di necrobiosi con emorragie. Le ferite d'arma da fuoco possono avere conseguenze mortali che dipendono dalla

distruzione di organi importanti, da emorragie per lesioni ai grossi vasi e da infezioni, dovute alla contaminazione della ferita. Talvolta i proiettili possono rimanere sequestrati a livello dei tessuti dell'animale circondati da tessuto di granulazione o connettivo neoformato.

### *Caratteri della ferita d'ingresso*

L'aspetto di questa lesione non è uniforme, ma varia secondo la dimensione dei proiettili, la direzione e la distanza da cui è partito il colpo. I comuni proiettili cilindro-ogivali determinano nei tegumenti una soluzione di continuo abbastanza regolare, con margini finemente sfrangiati e con scarsa perdita di sostanza, simile ad un piccolo foro beante. La sua forma è rotonda se il proiettile ha colpito il piano cutaneo con direzione perpendicolare, è ovale se l'incidenza avviene in modo obliquo, si presenta come una sottile fessura allungata quando il proiettile è di piccolo calibro e ad estremità assai appuntita, a somiglianza delle ferite d'arma da punta con la quale può essere erroneamente confusa. Le dimensioni variano secondo il calibro del proiettile anche se il diametro della ferita è sempre inferiore a causa della retrazione elastica della cute dopo la sua distensione. In corrispondenza dei margini esiste una zona di contusione determinata dalla forza d'urto del proiettile. La cute prima di essere perforata, s'introflette "a dito di guanto" e in questo istante il proiettile esercita un forte attrito contro le pareti della depressione cutanea; per questa azione compressiva rimane intorno ai margini della perforazione un cerchio rossastro, detto "orletto ecchimotico-escoriativo", dovuto all'asportazione degli strati superficiali della pelle e all'infiltrazione sanguigna sottostante. Un altro reperto è l'orletto di detersione che si forma sui margini del foro d'ingresso, dove il proiettile deposita le sostanze che ha trascinato con sé al passaggio lungo le pareti interne della canna. Nei colpi esplosivi a contatto i danni maggiori sono quelli provocati dall'azione esplosiva dei gas, la quale trasforma la lesione cutanea da un piccolo foro regolare e con scarsa perdita di sostanza in una ferita da scoppio assai più ampia, irregolare, a margini laceri e scolati, con fenditure raggate, di forma stellata, che in nulla ricorda l'aspetto comune delle ferite d'arma da fuoco. In base a ciò si distinguono i "colpi a distanza", nei quali si differenziano solo gli effetti determinati dal proiettile, i "colpi in vicinanza" nei quali si associano le azioni degli altri componenti dello sparo. Questi ultimi, a loro volta, si dividono in "colpi a contatto" quando sono presenti i caratteri di scoppio della ferita cutanea e i segni dell'ustione, affumicatura e tatuaggio situati nelle anfrattuosità lacere della ferita; in "colpi a bruciapelo" quando la distanza di tiro è utile per il formarsi dei fenomeni di ustione; in "colpi a vicinanza relativa" in cui mancano gli effetti dell'ustione e sono invece ancora presenti gli aloni di affumicatura e tatuaggio.

### *Caratteri del tramite*

Il tramite corrisponde al percorso del proiettile all'interno del bersaglio. Negli esseri viventi esso si presenta in forma di canale scavato nella compagine dei singoli tessuti, le cui pareti sono irregolari, anfrattuose, contuse e infiltrate di sangue. Si hanno tramite rettilinei quando il tragitto avviene lungo la direzione della traiettoria del proiettile (il caso più comune); tramite angolari, a linea spezzata, in seguito a

deviazioni o rimbalzi contro superfici resistenti incontrate nel percorso; tramiti curvilinei se il proiettile è dotato di scarsa forza viva e penetra obliquamente incontrando una superficie interna ricurva, come le ossa craniche e gli archi costali; tramiti a fondo cieco situati a varia profondità e in qualunque organo o in cavità interna; infine tramiti trasfossi o trapassanti a tutto spessore con orificio terminale di uscita. Il tragitto del tramite non si mantiene uniformemente cilindrica ma tende a svasarsi assumendo l'aspetto di un cono tronco allungato con l'apice rivolto al foro di ingresso e con la base all'opposto verso. Nel *tessuto sottocutaneo* i tramiti sono cilindrici e piuttosto regolari, ma spesso sono resi virtuali dalla protrusione dei lobuli di tessuto adiposo. Nei *muscoli* si formano tramiti ampi ed irregolari, crateriformi, se è colpita in senso perpendicolare l'asse delle fibre, mentre sono sottili e a forma di fessura se l'incidenza del proiettile è parallela al decorso delle fibre, che così vengono poco divaricate. Nelle *fasce* e nelle *aponeurosi*, a seconda della tensione e della disposizione dei fasci fibrosi, si hanno semplici fessure lineari che seguono la direzione di detti fasci, oppure perforazioni rotonde o stellari più piccole del calibro del proiettile (5). I *tendini* e i *nervi* possono sfuggire all'azione del colpo, oppure deviarne la direzione (i tendini), ma spesso restano contusi, stirati, recisi del tutto o lacerati in modo incompleto. I *vasi arteriosi* più grossi, come l'aorta, presentano lacerazioni lineari e retratte, talora però si hanno perforazioni stellari per fenomeni di scoppio con ampia lacerazione della parete vasale; più rare sono la semplice contusione con necrosi della parete, la secondaria trombosi, la formazione di aneurismi falsi e le fistole artero-venose. Le ferite al *pericardio* (6) si presentano come perforazioni rotonde o come fenditure lineari a margini sfrangiati e irregolari. Le ferite al *cuore* sono soluzioni di continuo lineari od oblique oppure caratterizzate da perdita di sostanza, penetranti in una cavità o trapassanti l'intero viscere. Negli *organi parenchimatosi* si osservano tramiti a semplice perforazione o pluriframmentazioni a scoppio. Nel fegato e nella milza si formano canali cilindrici con margini infiltrativi ed anfrattuosi; spesso si hanno lacerazioni che si irradiano dal canale a varia distanza accompagnate da perdita di sostanza o da escavazioni irregolari e necrotiche; se l'organo viene trapassato si osservano orifici di entrata rotondi o stellari o ellittici, tramiti interni crateriformi e orifici di uscita più grandi e irregolari di quelli di entrata (7, 10). Anche nel rene si producono analoghe lesioni. Nei *visceri cavi* (stomaco, intestino, vescica urinaria) si possono avere perforazioni nette della parete con foro di uscita più ampio e stellare; anche se sono assai più frequenti gli effetti di scoppio che dilacerano le pareti e formano vaste brecce. Nei tessuti duri, come le ossa, si formano tramiti di vario aspetto. Nelle *ossa spugnose* (corpi vertebrali) il proiettile scava un canale con piccole fratture irradiate e non di rado termina qui il suo percorso in una specie di nicchia. Nelle *ossa lunghe* il passaggio del proiettile entro la cavità diafisaria determina lo scoppio del tessuto osseo dando luogo a fratture gravi comminute oppure a grosse schegge. Più caratteristico il tramite nelle *ossa piatte* di un certo spessore. Nel punto di entrata sul tavolato esterno il proiettile provoca una perforazione netta, a stampo, il cui diametro corrisponde perfettamente al calibro del proiettile. La perforazione è rotonda se il colpo incide perpendicolarmente al piano osseo, oppure ellittica se l'incidenza avviene in modo obliquo. Essa si svasa a spese del tavolato interno, che presenta un'apertura più ampia e scheggiata (12). Le *ossa craniche* e la *massa cerebrale*, invece di tramiti a perforazione semplice e a canale

tronco-conico, possono presentare gli effetti di scoppio nei colpi esplosi con armi a canna lunga di grande potenza; in tal caso la cavità cranica può esplodere determinando la frammentazione, più o meno comminuta, delle ossa che la compongono e lo spappolamento della sostanza cerebrale, mentre la cute di rivestimento presenta solo gli orifici formati dal proiettile e qualche piccola lacerazione da schegge ossee. Nei tramiti a fondo cieco il proiettile è accolto in un'infossatura sacciforme (nicchia terminale), che può corrispondere a una cavità interna, a un osso spugnoso, o ad una massa muscolare. Vi sono circostanze nelle quali il proiettile non si reperta più, perché frammentato in minute schegge come accade se esso è costituito da solo piombo nudo (9); oppure è migrato nel fondo di una cavità naturale o dentro ad un grosso vaso sanguigno a guisa di embolo. In questi casi è di grande aiuto l'esame radiografico, che sarebbe buona regola eseguire quando è possibile col vantaggio di individuare esattamente il proiettile ed abbreviare il tempo della necropsia (17).

Lungo i tramiti si possono trovare, infine, corpi estranei e schegge ossee di minuta frammentazione.

#### *Caratteri della ferita d'egresso*

L'orificio di uscita del proiettile è rappresentato da una soluzione di continuo dei tegumenti, i cui caratteri morfologici sono variabili. Si presenta in forma rotonda,

Tab. 2: Caratteri del tramite a seconda del tessuto che il proiettile incontra a livello del bersaglio.

<b>Tessuto</b>	<b>Carattere del tramite</b>
Sottocute	Cilindrici e regolari
Muscoli	Crateriformi o come fessurazioni
Fasce e aponeurosi	Rotondo o stellare o come fessurazioni
Vasi	Perforazioni stellari o lacerazioni lineari
Pericardio	Rotondo o fenditure lineari a margini frastagliati
Cuore	Soluzioni di continuo lineari - oblique
Fegato, rene e milza	Canali cilindrici con margini anfrattuosi (tramiti interni crateriformi, e di uscita più grandi di quelli d'entrata).
Visceri cavi (stomaco, intestino, vescica)	Perforazioni nette o scoppio (ampie brecce parietali)
Ossa spugnose (corpi vertebrali)	Canale con piccole fratture irradiate.
Ossa lunghe	Scoppio (fratture gravi comminute o grosse schegge)
Ossa piatte	Perforazione rotonda o ellittica. Talvolta scoppio.
Massa cerebrale	Spappolamento della massa cerebrale.

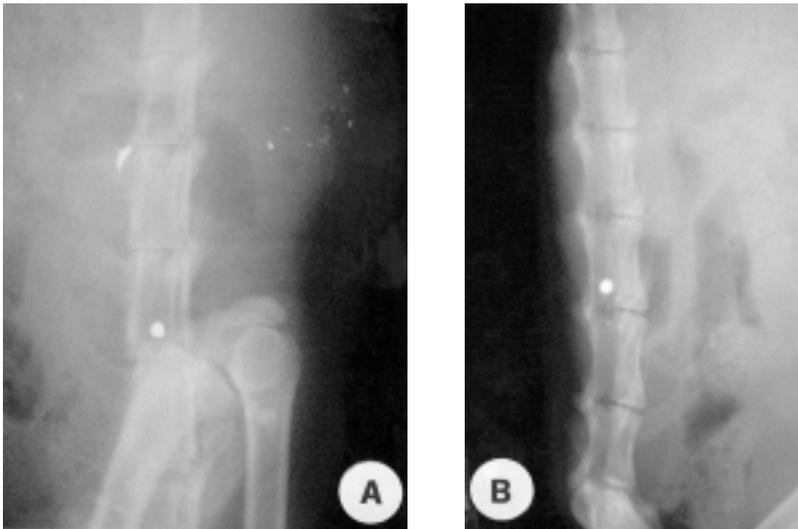


Foto A e B: Gatto europeo, femmina, di anni 6. Proiezione VD e LL del rachide lombare. Si rileva la presenza di un pallino (N. 9) a livello del canale spinale L5, sparato con arma da fuoco.

Per gentile concessione della Sezione di Radiologia Veterinaria e Diagnostica per Immagini della Facoltà di Medicina Veterinaria dell'Università degli Studi di Parma.

oppure come una ferita lacera stellare, o come una semplice fenditura lineare della cute, con margini irregolari, frastagliati, estroflessi e infiltrati di sangue. Al contrario di quanto avviene per la ferita d'ingresso, nella ferita di egresso il proiettile estroflette la cute prima di perforarla, ma l'estroflessione dei margini non è sempre ben visibile mentre è più facile rilevare la fuoriuscita di lacinie aponeurotiche o fibrose, di schegge ossee o di lembi di tessuto molle procidenti dall'apertura. Rispetto al foro d'ingresso, quello di uscita, presenta dimensioni maggiori ed una minore infiltrazione dei margini, anche se talvolta si ha un'ampia soffiatura ecchimotica attraverso la quale traspare l'infiltrazione ematica sottostante (16).

#### *Lesioni da cariche multiple*

Costituiscono il caso più comune di ferimenti multipli prodotti con un unico colpo, dove ciascun proiettile componente la carica esplica la propria azione vulnere. Le armi di questa categoria sono i fucili da caccia caricati a pallini o pallettoni. La carica dei proiettili quando esce dalla canna è raccolta in un'unica massa e tale si mantiene fino ad una certa distanza, che varia da uno a due metri, secondo le caratteristiche della carica e dell'arma. Dopo tale limite i pallini iniziano la dispersione, i quali, a cominciare da quelli più periferici, divergono dall'asse di proiezione perché dotati di minore forza viva. A maggiore distanza la dispersione diventa completa e i pallini vengono a trovarsi allontanati gli uni dagli altri con maggiore distanziamento

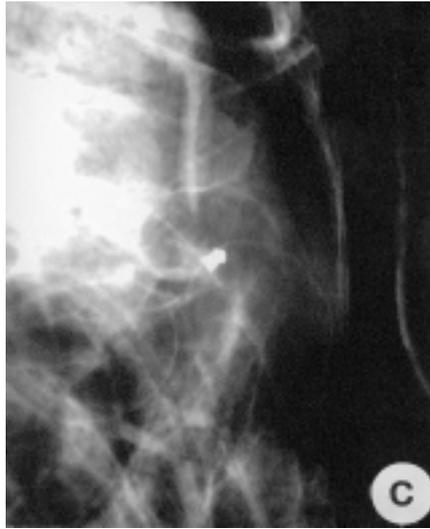


Foto C: Cane, meticcio, femmina, di anni 5. Proiezione VD della porzione craniale SN dell'addome. Si rilevano processi enfisematosi a livello addominale e sottocutaneo. Si osserva, inoltre, un pallino di piombo da fucile ad aria compressa. Per gentile concessione della Sezione di Radiologia Veterinaria e Diagnostica per Immagini della Facoltà di Medicina Veterinaria dell'Università degli Studi di Parma.

di quelli periferici rispetto a quelli centrali (rosata). Si forma così una figura a tronco di cono con l'apice rivolto alla bocca dell'arma e la base verso il bersaglio (cono diretto), la cui ampiezza va allargandosi fino ad un punto massimo in cui tutti i pallini della cartuccia sono presenti sulla superficie del bersaglio raggiungendo la massima estensione. Successivamente essa si riduce a mano a mano che i pallini periferici perdono di forza viva e cadono, in maniera che la figura del cono si dispone in modo inverso al precedente (cono invertito) in cui i pallini sono sempre più diradati e in minore numero con l'aumentare della distanza. Il carattere delle ferite e gli effetti lesivi variano con la distanza di tiro, potendosi avere (3):

*Grossa ferita unica:* la carica dei pallini ancora ammassata agisce come un unico proiettile producendo una ferita di ingresso, di alcuni centimetri di diametro, con i margini festonati per l'azione dei pallini periferici, frangiati ed infiltrati di sangue. Il tramite si mantiene unico e di notevoli dimensioni, oppure i pallini si disperdono nell'interno formando tanti piccoli tramiti distinti da quello principale. Tali tramiti riprenderanno le caratteristiche considerate per le lesioni da proiettile unico.

*Grossa ferita contornata da ferite puntiformi:* quando la massa dei pallini ha appena iniziato la dispersione si rinvengono intorno al grosso foro centrale piccoli fori singoli dovuti ai pallini periferici isolati dal resto della carica. Questi danno origine a tanti piccoli tramiti divergenti da quello principale e possono fuoriuscire od essere trattenuti nei tessuti (16).



Foto D: Pastore tedesco, maschio, di anni 6. Proiezione VD del rachide cervicale (particolare: spazio intervertebrale C2-C3). Si rileva un pallino da caccia (N. 9), sparato con arma da fuoco, sul lato sinistro del rachide, in corrispondenza dello spazio intervertebrale C2-C3.

Per gentile concessione della Sezione di Radiologia Veterinaria e Diagnostica per Immagini della Facoltà di Medicina Veterinaria dell'Università degli Studi di Parma.

*Ferite multiple puntiformi:* quando la dispersione è completa si riproduce sulla superficie del bersaglio la forma della rosata, costituita da numerosissime ferite puntiformi prodotte dai singoli pallini, le quali sono rotonde, a margini finemente irregolari, più piccole del calibro dei pallini e circondate da un piccolo orletto contusivo. I proiettili periferici che raggiungono la cute con direzione obliqua, producono invece piccoli fori, solchi od escoriazioni allungate. Ciascuna ferita è seguita da un tramite indipendente e divergente, la cui profondità è in relazione alla forza viva dei pallini e alla resistenza dei tessuti incontrati, tenendo presente che questi proiettili non hanno generalmente forza di penetrazione sufficiente a produrre fori di uscita, restando perciò in maggioranza ritenuti nei tessuti (14).

Nei colpi esplosi a breve distanza, intorno alla ferita di ingresso, si possono trovare i segni dell'ustione, dell'affumicatura e del tatuaggio, che si estendono per una zona in genere più ampia di quella prodotta dalle armi a proiettile unico, con disposizione centrale od eccentrica secondo la direzione del colpo. In questi casi può accadere che altri componenti della carica (borre, cartoncini) penetrino nella ferita e si trovino a varia profondità nel tramite. Gli effetti delle armi da caccia sono micidiali a tiro corto per l'azione distruttiva sui tessuti, determinata dall'espansione esplosiva dei gas e soprattutto dall'ammassamento dei piombi che provoca fratture estese e comminute delle ossa, vaste lacerazioni dei grossi vasi e imponenti rotture dei visceri (10).

Se il tiro proviene da ulteriore distanza mancano gli effetti esplosivi dei gas, ma

i fenomeni distruttivi a carico dei tessuti risultano ancora molto estesi e gravi perché la maggior parte della carica è molto concentrata sul bersaglio. Nel punto di uscita, invece di un largo squarcio, si trova un foro piuttosto ampio ed irregolare, talora circondato da altri fori più piccoli prodotti da alcuni proiettili già separati dalla parte centrale della carica ma ancora dotati di forza viva sufficiente per determinare tramiti trasfossi. Il diradamento della carica produce lesioni di minore entità, tuttavia anche un solo pallino giunto a segno può causare la morte dell'animale per lesioni, anche minime, ad organi vitali.

## **DIAGNOSI MEDICO-LEGALE**

La diagnosi medico-legale si basa sulla valutazione del tipo di lesione, della distanza e direzione dello sparo, sul numero di colpi esplosi che hanno raggiunto il bersaglio e sul tipo di arma utilizzato.

### *Natura delle lesioni*

Il riconoscimento di una lesione d'arma da fuoco riesce assai facile nella generalità dei casi. Le ferite da cariche multiple, hanno forma e disposizione che non lascia dubbi sulla loro natura, tanto più se nei tramiti, come spesso accade, si ritrovano pallini di piombo ritenuti. Le ferite da colpo unico, nei colpi esplosi in vicinanza, si riconoscono per i segni di affumicatura e tatuaggio intorno al foro di ingresso o nel tratto iniziale del tramite: nei colpi sparati a distanza l'orificio d'ingresso presenta aspetto imbutiforme ed il tramite presenta maggiore profondità rispetto a quello che si osserva nelle ferite da punta, con le quali possono essere confusi. Per la diagnosi tra lesioni inferte in vita o dopo la morte è necessario ricercare fenomeni reattivi a carico dei tessuti (11).

### *Distanza di sparo*

La distanza dello sparo può essere stabilita con facilità se i colpi sono stati sparati a contatto o nelle vicinanze del bersaglio. A distanze maggiori, gli effetti lesivi sono provocati dal solo proiettile e poco o nulla si potrà stabilire riguardo alla distanza dello sparo. Infatti, il criterio valutativo delle lesioni prodotte dalla sola forza viva del proiettile può fornire dati appena approssimativi e solo conoscendo l'arma e la carica adoperata ed eseguendo tiri di prova su bersagli equiparabili al corpo dell'animale si può trarre qualche indicazione circa la zona limite degli effetti esplosivi. Nei colpi esplosi con fucili da caccia assume grande importanza, più che le dimensioni della rosata, la densità delle singole lesioni che indicano la concentrazione dei pallini. Utili, in ogni caso, gli esperimenti con l'arma sospettata e con cariche identiche a quelle usate, testate su cartoni posti a varie distanze per giungere a conclusioni più attendibili.

### *Direzione del colpo*

Una prima indicazione sull'incidenza perpendicolare od obliqua dello sparo si può desumere già dalla forma rotonda o ellittica del foro d'ingresso e dalla dispo-

zione intorno a questo dell'orletto ecchimotico-escoriativo e degli aloni di affumicatura e di tatuaggio. Nel caso di ferite trasfosse bisogna distinguere con assoluta sicurezza il foro d'ingresso da quello d'egresso, in base ai rispettivi caratteri morfologici. La direzione del tramite può essere stabilita con relativa facilità, specie se esso interessa ossa piatte dove lascia perforazioni imbutiformi caratteristiche. Tuttavia il tragitto della ferita, che rappresenta la traiettoria anatomica del proiettile, non sempre coincide con la traiettoria balistica, perché la vittima al momento dello sparo può aver assunto i più diversi atteggiamenti.

### *Numero dei colpi*

Non vi sono difficoltà nello stabilire il numero dei colpi se si tratta di una ferita unica, a fondo cieco o trasfossa. Tuttavia possono sorgere delle incertezze in alcune circostanze che devono essere tenute in conto, quando: un proiettile si frammenta prima di raggiungere il bersaglio per l'urto contro una superficie resistente, oppure si aggiungono proiettili secondari (si avranno più ferite d'ingresso di vario aspetto e più tramiti di varia profondità); quando la frammentazione del proiettile è avvenuta dopo la penetrazione nei tessuti dell'animale si potrà osservare un solo orificio di entrata e più tramiti a fondo cieco o trasfossi.

### *Identificazione dell'arma*

Il compito è assai facilitato quando si disponga di un'arma sequestrata, di bossoli rinvenuti sul luogo del fatto e di proiettili estratti dal cadavere o altrimenti repertati. I soli caratteri della ferita d'ingresso non sono sufficienti per dedurre il calibro dell'arma, in conseguenza della retrazione elastica della cute che riduce il diametro della ferita stessa, mentre maggiore corrispondenza vi è nei fori prodotti sulle ossa piatte. Nei bossoli delle cartucce esplose si esaminano i segni lasciati sul fondello metallico dai meccanismi di caricamento e di estrazione, nonché l'impronta centrale o eccentrica, più o meno profonda, prodotta dal percussore sulla capsula d'innesco, che sono abbastanza costanti per ogni arma.

### *Conclusioni*

Nei ferimenti d'arma da fuoco sorgono numerose questioni che possono trovare risposta applicando le nozioni relative ai vari tipi d'arma, al loro meccanismo d'azione e agli effetti lesivi che ne conseguono (4).

Il perito settore, nelle necroscopie legali per ferimento o morte d'arma da fuoco, deve valutare molto attentamente tutti particolari che il caso presenta, senza cadere in errori dovuti alla superficialità o ad una scarsa o non corretta raccolta dei documenti e dei campioni che permettano in seguito il corretto svolgimento di un procedimento legale. A questo scopo è sempre buona norma raccogliere un'adeguata documentazione (fotografie, lastre radiografiche ecc.) da presentare al magistrato, poiché al perito settore è richiesto fondamentalmente un parere medico, basato su osservazioni oggettive che devono essere dimostrate, senza dare adito a dubbi o perplessità.

Per tali motivi è di fondamentale importanza che il patologo incaricato ad ese-

guire una necropsia legale affronti il caso da esaminare, attenendosi scrupolosamente al protocollo di necropsia senza tralasciare di considerare scrupolosamente ogni apparato ed organo.

Nel valutare le lesioni d'arma da fuoco sarà fondamentale risalire al numero di colpi esplosi, alla distanza di sparo e all'arma utilizzata, evitando di confondere lesioni post-mortali o artefatti con lesioni incorse *intravitam*.

**Parole chiave:** armi da fuoco, ferita da proiettile, diagnosi medico-legale, cane, gatto.

**Key words:** fire-arms, bullet wound, forensic medicine, dog, cat.

**RIASSUNTO** - Con il presente lavoro gli autori hanno voluto prendere in considerazione gli aspetti salienti relativi alle lesioni d'arma da fuoco, nel cane e nel gatto, valutandone i quadri anatomopatologici. La descrizione e lo studio di tali lesioni è soprattutto frutto di perizie medico-legali su animali deceduti e presentanti lesioni d'arma da fuoco.

**SUMMARY** - The AA. describe the pathological aspects of fire-arm lesions in dogs and cats. The high number of cases of fire-arm injuries, above all in rural areas, make indispensable a correct knowledge of this aspects.

The damage inflicted on the soft tissues and bone depends on the type of fire-arm used and the range at which it was fired. Our study is obtained from several cases recorded in the Department of Animal Health, Pathology Unit, University of Parma.

### *Bibliografia*

1. **Bebchuck T., Harari J.** (1996). Gunshot injuries: pathophysiology and treatments, *Veterinary Clinics of North American Small Animal Practice*, 25: 5, 1111-1126.
2. **Canuto G. Tovo S.** (1996). *Medicina Legale e delle Assicurazioni*, Piccin Nuova Editrice, Padova, (12° edizione).
3. **Cazzaniga A. et al.** (1999). *Medicina Legale e delle Assicurazioni*, UTET Torino (11° edizione).
4. **Chiodi V.**, (1986). *Manuale di medicina legale*, Vallardi, Milano.
5. **De Muth W.** (1966). Bullet velocity and design as determinants of wounding capability: an experimental study. *Journal of Trauma*, 6, 222-232.
6. **De Muth W.** (1968) High velocity bullet wounds of the thorax, *American Journal of Surgery*, 115, 616-625.
7. **De Muth W., Smith J.** (1996). High velocity bullet wounds of muscle and bone: the basis of rational treatment, *Journal of Trauma*, 6, 744-755.
8. **Doherty M., Smith M.** (1995). Contamination and infection of fractures resulting from gunshot trauma in dogs: 20 cases (1987-1992), *Journal of the American Medical Association*, 206 (2), 203-205.
9. **Fackler M., Surinchak J.** (1984). Bullet fragmentation: a major cause of tissue destruction, *Journal of Trauma*, 24: 35-39.

10. **Fullington R., Otto C.** (1997). Characteristics and management of gunshot wounds in dogs and cats: 84 cases (1986-1995), *Journal of the American Medical Association*, 210 (5), 658-662.
11. **Green P.D.** (1980). Protocols in medico-legal Veterinary Medicine II. Cases Involving Death Due to gunshot and Arrow Wounds, *Canadian Veterinary Journal*, 21: 343-346.
12. **Herron N.** (1990). Gunshots fractures etiopathogenesis and definitive therapy, *Veterinary Surgery*, 19. (1), 67-68.
13. **Johnson O.** (1978). On management of bullet injuries, *Ethiop. Med. J.*, 16:(1), 25-32.
14. **Pavletic M.** (1985). A review of 121 gunshots wounds in dogs and cats, *Veterinary Surgery*, 14:(1), 61-62.
15. **Pavletic M.** (1986). Gunshot wounds in veterinary medicine: projectile ballistics parts 1 and II, *Compendium of the Continuing Education for the Practicing Veterinarian*, 8:(1), 4 7-60; 125-134.
16. **Vastitas N., Meagher D.** (1995). Gunshot in horses: 22 cases (1971-1993), *Journal of the American Medical Association*, 207:(9), 1198-1200.
17. **Wobeser G.** (1996). Forensic (medico legal) necropsy of wild life, *Journal of Wildlife Disease*, 32 (2), 240-249.

## IL VETERINARIO E IL “PIANETA SICUREZZA” DEFINITO DAL D. LGS. 626/1994

Bresciani G.<sup>1</sup> - Zannetti G.<sup>2</sup>

### *Premessa*

Una delle esigenze più caratterizzanti e “globalizzanti” dell’era post-industriale che stiamo vivendo è senza alcun dubbio quella della sicurezza, ossia la certezza che tutto quanto serve per vivere, dagli alimenti al posto di lavoro, ai mezzi di comunicazione e di trasporto, agli stessi strumenti di fruizione del tempo libero, sia realizzato e applicato in modo da non comportare alcun rischio per la nostra salute e la nostra integrità fisica.

E’ evidente che l’obiettivo della sicurezza “totale” è un target irraggiungibile, in quanto si sposta continuamente in avanti, ma è altrettanto vero che questa utopia ha trovato validi motivi di concretizzazione e di applicazione negli altissimi costi economici e sociali della non-sicurezza a tutti i livelli della vita civile e produttiva. Questo stato di cose, almeno nei Paesi più avanzati, ha fatto spostare il rapporto costi/benefici proprio a vantaggio della prevenzione del rischio piuttosto che verso l’attivazione di meccanismi, anche di grande efficacia, per la cura, il ricupero e il risarcimento dei danni dovuti ad un rischio non prevenuto in modo adeguato.

Da questa realtà è scaturita una vera e propria “filosofia” della prevenzione che, soprattutto nei settori produttivi della società, ha rivoluzionato l’approccio a molti aspetti della vita quotidiana, da quelli più ovvi della progettazione e realizzazione degli impianti e degli ambienti di lavoro a quelli, in apparenza secondari e addirittura frivoli, che attengono ad oggetti e funzioni della vita familiare, anche in ambito domestico: la nostra cara, vecchia (e apparentemente innocua !) poltrona da lavoro o da relax con le rotelle può essere valutata come fattore di rischio grave per caduta laterale, ribaltamento, ecc., a causa del numero incongruo di ruote, del loro diametro incorretto, della loro stessa struttura di attacco inadeguata e, come tale, può essere dichiarata “fuori legge”!

Questa nuova filosofia del rischio è stata recepita da tempo nei Paesi del Nord-Europa, che hanno modificato in questo stesso senso anche lo spirito delle normative sovranazionali sull’argomento, influenzando già fino dal loro primo ingresso la stessa UE, in cui è stato trasferito in forma di direttive comunitarie questo nuovo modo di concepire la prevenzione dei pericoli che incombono su di noi, non solo sul posto di lavoro, ma in tutte le manifestazioni della vita quotidiana. Del resto, gli infortuni e le patologie legate in particolare a mancanza di sicurezza nel lavoro hanno

---

<sup>1</sup> Direttore tecnico TECNOSAF – Parma

<sup>2</sup> Professore ordinario, Università di Parma

raggiunto costi sociali ed economici tanto rilevanti da rendere sempre più vantaggiosi gli investimenti nella prevenzione dei rischi derivanti da incidenti o malattie contratte sul posto di lavoro.

Questa moderna e ormai dilagante concezione del rischio inteso come una sorta di malattia infettiva grave, da prevenire a qualunque costo con lo studio e l'applicazione di norme sempre più rigide, ha dunque comportato l'emanazione di numerose direttive UE che, nel nostro Paese, sono state recepite con il D. Lgs. 626/1994, ripetutamente aggiornato e modificato negli anni successivi.

Per quanto attiene più specificamente alle attività di competenza veterinaria, il coinvolgimento del veterinario discende solo in parte dal fatto di essere oggetto e comunque beneficiario degli effetti dell'applicazione delle norme contenute nel D. Lgs. 626/1994. In effetti, per molti altri aspetti, il veterinario è, suo malgrado (e forse a sua stessa insaputa!), una figura fisica e giuridica a cui competono in più fattispecie un ruolo attivo nell'applicazione della norma contenuta nel suddetto decreto. Il veterinario, infatti, può essere coinvolto in problemi inerenti alla prevenzione del rischio sul posto di lavoro, sia per delega del datore di lavoro, sia come responsabile "naturale" in questo ambito, soprattutto in funzioni di dirigente o di responsabile tecnico altamente qualificato nelle attività industriali o produttive in cui esprime la sua professionalità, come accade nelle aziende agro-zootecniche, nei macelli o negli stabilimenti di lavorazione o di trasformazione di carni o altre derrate di origine animale.

Nelle pagine che seguono, appunto, sono espressi alcuni concetti e interpretazioni del disposto del D. Lgs. 626/1994 in punti o norme che attengono più da vicino al coinvolgimento del veterinario.

#### *Il D. LGS. 626/1994: Articolazione e contenuti*

Il decreto in questione raccoglie concetti e disposizioni contenuti in almeno sette direttive comunitarie tutte in argomento di miglioramento della sicurezza e della salute dei lavoratori sul luogo di lavoro. Il relativo testo contiene 98 articoli suddivisi fra 10 titoli, che spaziano dagli obblighi di quanti sono coinvolti in attività produttive o di servizio (datori di lavoro, lavoratori, ecc.) alle modalità di intervento degli organismi tecnici e rappresentativi in materia di sicurezza, alla formazione dei lavoratori, ai servizi di vigilanza in materia, alla prevenzione di forme specifiche di rischio (incendio, agenti cancerogeni, biologici, da videoterminali, ecc.) ai rispettivi livelli di sorveglianza sanitaria, concludendosi con 15 allegati di dati più strettamente tecnici.

Si tratta, perciò, di un testo relativamente complesso, in cui sono ricomprese materie di competenza molto articolata, con riferimenti tecnici spesso di non facile interpretazione univoca, dal quale però scaturisce realmente la volontà di realizzare un sistema "sicurezza" nel senso anzidetto, anche nella forma e nello spirito con cui si articola con la normativa in materia già contenuta nel codice civile e penale e in altre disposizioni emanate in precedenza da organi diversi dello Stato, di cui è, al tempo stesso, continuazione e presupposto.

La trattazione di quanto c'è di "veterinario" nel D.Lgs. 626/1994, nella normativa integrativa e nella conseguente giurisprudenza presuppone l'illustrazione di alcu-

ne definizioni relative al datore di lavoro, ai dirigenti, preposti e alle rispettive, deleghe, così come si desumono dallo stesso decreto e da altre disposizioni legislative in materia, nonché dalla ormai consistente giurisprudenza sull'argomento; a detta trattazione seguiranno via via gli altri concetti che sono alla base della normativa in questione, nonché le implicazioni più consistenti per la professione veterinaria nelle diverse espressioni più "esposte" su questo argomento.

### ***1. Nozione di datore di lavoro***

La nozione generale di datore di lavoro si può desumere da quella di lavoratore subordinato, definita dalle norme generali in materia di igiene e sicurezza (art. 3 del D.P.R. n. 547 e art. 3 del D.P.R. n. 303). Ai fini particolari dell'igiene e sicurezza del lavoro, infatti, è datore di lavoro colui che impiega lavoratori fuori dal loro domicilio, alle proprie dipendenze e sotto le proprie direttive, con o senza retribuzione, anche al solo fine di far loro apprendere un'arte o un mestiere.

La giurisprudenza ha riconosciuto che il datore di lavoro ha l'obbligo di tutelare l'igiene e la sicurezza anche di soggetti estranei al rapporto di lavoro in senso stretto, purché si tratti di soggetti autorizzati dal datore di lavoro stesso - implicitamente o esplicitamente - a frequentare il luogo di lavoro.

Ai fini specifici dell'applicazione del D.Lgs. 626/1994, inoltre, nel settore privato si intende per datore di lavoro il titolare del rapporto di lavoro con il lavoratore o, comunque, il soggetto che, secondo il tipo e l'organizzazione dell'impresa stessa ovvero dell'unità produttiva - per tale intendendosi lo stabilimento o struttura finalizzata alla produzione di beni o servizi dotata di autonomia finanziaria e tecnico-funzionale - abbia la responsabilità dell'impresa o dello stabilimento, in quanto titolare dei poteri decisionali e di spesa (art. 2, lett. b), prima parte) Tale si configura, in particolare, il direttore di uno stabilimento di macellazione o di un'azienda agro-zootecnica di dimensioni medio-grandi.

### ***2. Nozione di dirigente e di preposto***

#### *Dirigente*

La giurisprudenza riconosce la figura del dirigente nel lavoratore che con la sua attività influisce sull'intera azienda o, nelle aziende di grandi dimensioni, su un ramo rilevante di essa.

Di regola il dirigente non è soggetto al potere gerarchico di nessun altro lavoratore subordinato, ma solo a quello del datore di lavoro.

Ai fini della sussistenza degli obblighi e delle responsabilità in materia di igiene e sicurezza, ciò che rileva non è tanto la qualifica formalmente posseduta, quanto la circostanza che le mansioni di dirigente o di preposto siano in concreto espletate (Cass. pen. 22 novembre 1991, n. 11934).

#### *Preposto*

Il preposto è colui che sovrintende al lavoro degli altri, generalmente un operaio o un impiegato specializzato con funzioni di guida diretta e controllo immediato sull'esecuzione del lavoro (ad esempio, caposquadra, capo reparto, capoufficio, ecc.).

In proposito, per la severità della linea seguita si evidenzia una sentenza (Cass., sez. pen., 22 aprile 1999, n. 5142), secondo cui “se in qualità di preposto l'imputato non aveva l'autorità sufficiente per disporre l'adozione delle cautele antinfortunistiche, aveva il dovere di rappresentare la situazione a chi tale autorità aveva ed astenersi dal dirigere lavori in condizioni di pericolo per le persone”.

### **3. Requisiti di efficacia della delega**

Secondo la giurisprudenza più accettata e più aggiornata, la delega di obblighi e responsabilità deve rispondere a particolari caratteristiche; diversamente, essa sarà inidonea a esonerare il delegante dalla responsabilità in materia di igiene e sicurezza oggetto della stessa e, per converso, sarà inidonea a far riconoscere una siffatta responsabilità in capo al delegato.

In particolare, si ritiene ormai per certo che:

- a) la delega deve essere conferita a persona idonea per capacità tecnica ed esperienza;
- b) la delega deve trasmettere al delegato non solo l'obbligo al rispetto delle norme di sicurezza, ma anche i mezzi tecnici ed economici e i poteri organizzativi necessari per adempiere quell'obbligo;
- c) il delegato deve avere manifestato il proprio consenso, almeno tacito, alla delega stessa;
- d) la delega deve essere conferita espressamente e rigorosamente provata.

Secondo altre sentenze, inoltre, è necessario che:

- la delega - per potersi ritenere sufficientemente provata - debba essere disposta per iscritto;
- l'azienda sia di dimensioni tali che il titolare non potrebbe da solo garantire il rispetto della normativa antinfortunistica, né sovrintendere al lavoro di tutte le maestranze occupate presso di essa.

Ai sensi dell'art. 1, ultimo comma, del D.Lgs. n. 626/1994, aggiornato dal D.Lgs. n. 242 del 1996, peraltro, gli obblighi di seguito elencati non possono essere delegati:

- l'elaborazione del documento di valutazione del rischio e gli adempimenti documentali conseguenti ovvero, nei casi in cui essa è prevista, l'autocertificazione sostitutiva di aver eseguito la valutazione dei rischi e gli obblighi da essa derivanti;
- la designazione del responsabile del servizio di prevenzione e protezione e la nomina del medico competente.

Con la delega di attribuzione viene anche attribuito un potere di rappresentanza nei confronti dei terzi (procura), del resto necessaria al delegato per poter adempiere in concerto ai compiti attribuitigli con la delega (ad esempio, la facoltà di acquistare in nome e per conto dell'azienda i dispositivi di protezione aziendale).

### **4. Obbligo generale di sicurezza**

Già l'art. 2087 cod. civ., disponendo che “l'imprenditore è tenuto ad adottare nell'esercizio dell'impresa, le misure che, secondo la particolarità del lavoro, l'espe-

rienza e la tecnica, sono necessarie a tutelare l'integrità fisica e la personalità morale dei prestatori di lavoro", ha creato il presupposto giurisprudenziale per l'emana- zione e l'applicazione di norme sempre più articolate in relazione alle specifiche lavorazioni svolte e agli specifici apparecchi utilizzati, nonché agli specifici rischi cui il lavoratore è esposto.

L'interpretazione più recente dell'art. 2087 cod. civ. si caratterizza ulteriormente nell'obbligo di attuare le misure di sicurezza suggerite dallo stato della migliore tecnica del momento (per tutte: Cass. pen. 27 settembre 1994, n. 10164). Da ultimo, secondo la Cass. pen. 3 novembre 1998, n. 11424 "...il datore di lavoro deve ispirare la sua condotta alle acquisizioni della migliore scienza ed esperienza.... sicchè non è sufficiente che una macchina sia munita degli accorgimenti previsti dalla legge in un certo momento storico se il processo tecnologico cresce in modo tale da suggerire ulteriori e più sofisticati presidi per rendere la stessa più sicura, tenendo anche conto di possibili imprudenze e negligenze del lavoratore".

Gli obblighi fondamentali in materia di igiene e sicurezza sono dettati in particolare dall'art. 3 del D.Lgs. 626/1994, secondo il quale le misure generali che deve adottare il datore di lavoro sono:

- a) valutazione dei rischi per la salute e la sicurezza;
- b) eliminazione dei rischi in relazione alle conoscenze acquisite in base al progresso tecnico e, ove ciò non sia possibile, loro riduzione al minimo;
- c) riduzione dei rischi alla fonte;
- d) programmazione della prevenzione mirando ad un complesso che integra in modo coerente nella prevenzione le condizioni tecniche produttive ed organizzative dell'azienda nonchè l'influenza dei fattori dell'ambiente di lavoro;
- e) sostituzione di ciò che è pericoloso con ciò che non lo è, o è meno pericoloso;
- f) rispetto dei principi ergonomici nella concezione dei posti di lavoro, nella scelta delle attrezzature e nella definizione dei metodi di lavoro e produzione, anche per attenuare il lavoro monotono e quello ripetitivo;
- g) priorità delle misure di protezione collettiva rispetto alle misure di protezione individuale;
- h) limitazione al minimo del numero dei lavoratori che sono, o che possono essere, esposti al rischio;
- i) utilizzo limitato degli agenti chimici, fisici e biologici, sui luoghi di lavoro;
- l) controllo sanitario dei lavoratori in funzione dei rischi specifici;
- m) allontanamento del lavoratore dall'esposizione a rischio, per motivi sanitari inerenti la sua persona;
- n) misure igieniche;
- o) misure di protezione collettiva ed individuale;
- p) misure di emergenza da attuare in caso di pronto soccorso, di lotta antincendio, di evacuazione dei lavoratori e di pericolo grave ed immediato;
- q) uso di segnali di avvertimento e di sicurezza;
- r) regolare manutenzione di ambienti, attrezzature, macchine ed impianti, con particolare riguardo ai dispositivi di sicurezza in conformità alla indicazione dei fabbricanti;
- s) informazione, formazione, consultazione e partecipazione dei lavoratori ovvero dei loro rappresentanti, sulle questioni riguardanti la sicurezza e la salute sul luogo di lavoro;

t) istruzioni adeguate ai lavoratori.

E' solo il caso di rilevare già ora come una parte rilevante delle misure e funzioni ora specificate rientrino appieno nelle competenze del veterinario, soprattutto nell'ambito di un impianto di macellazione in cui lo stesso facilmente svolge attività di tipo dirigenziale.

Si deve rilevare, infine, che l'obbligo di sicurezza riguarda non solo i lavoratori sani - al fine di evitare il verificarsi di infortuni o l'insorgere di malattie - ma anche coloro che siano già affetti da patologie, per evitare che esse si aggravino a causa del lavoro (Cass. pen. 19 gennaio 1994 n. 468).

### **5. Sicurezza e salute dei lavoratori sul luogo di lavoro**

Il D. Lgs. 626/1994, come già si è detto, ha recepito undici direttive del Consiglio delle Comunità europee che disciplinano la sicurezza e la salute dei lavoratori sul luogo di lavoro, e si applica nei "casi espressamente previsti":

- ai lavoratori a domicilio
- ai lavoratori con rapporto contrattuale privato di portierato
- ai lavoratori addetti a servizi domestici e familiari
- ai lavoratori autonomi se non dove ciò è espressamente previsto

Il D.Lgs. in questione non si applica nemmeno ai soci di società che non prestano attività lavorativa nell'azienda.

### **6. Il coordinamento con le norme già in vigore**

Il D. Lgs 626/1994, pur modificando considerevolmente il quadro giuridico della materia, non ha abrogato le norme generali sull'igiene e la sicurezza del lavoro già in vigore. A conferma di ciò, l'art. 98 dello stesso D. Lgs. stabilisce che "restano in vigore, in quanto non specificatamente modificate" le disposizioni vigenti.

### **7. Il servizio di prevenzione e protezione (SPP).**

#### **7.1. Nozione**

Per servizio di prevenzione e protezione si intende (art. 2, lett. c del D.Lgs. in discussione) l'insieme di persone, sistemi e mezzi esterni o interni all'azienda finalizzati all'attività di prevenzione e protezione dai rischi professionali nell'azienda ovvero nell'unità produttiva.

#### **7.2. Quadro normativo**

Il servizio di prevenzione e protezione è regolato dal D.Lgs. 626/1994 e, in particolare, dagli articoli seguenti:

- art. 4, quarto comma, con riferimento all'obbligo di nominare il responsabile del "servizio";
- art. 8, con riferimento all'organizzazione del servizio stesso;
- art. 9, con riferimento ai compiti del "servizio";

- art.10, (in combinato disposto con l'allegato I dello stesso D.Lgs.), con riferimento ai casi in cui i compiti del "servizio" possono essere svolti direttamente dal datore di lavoro;
- art. 89, con riferimento alle sanzioni.

Il D.M. 16 gennaio 1997 ha successivamente individuato i contenuti minimi della formazione dei lavoratori, dei rappresentanti per la sicurezza e dei datori di lavoro, che possono svolgere direttamente i compiti propri del responsabile del servizio di prevenzione e protezione.

### ***7.3. Obbligo di organizzare il servizio di prevenzione e protezione***

Il decreto legislativo 626/1994 prevede una "funzione" di prevenzione e protezione, che deve essere svolta nelle aziende fino a 10 addetti assunti a tempo indeterminato.

Come è confermato da numerose disposizioni di questo decreto legislativo (art. 8, primo, secondo, quinto, sesto e settimo comma), l'obbligo di predisporre il servizio di prevenzione e protezione riguarda non solo le "aziende" ma anche le "unità produttive". Ne deriva che, quando l'"azienda" è articolata in più "stabilimenti" o più "unità produttive", il servizio di prevenzione e protezione deve essere organizzato in ciascuna unità produttiva, non essendo sufficiente organizzare un unico servizio per tutta l'azienda.

#### *Designazione del responsabile e degli addetti al servizio interno all'azienda*

L'art. 8 del D.Lgs. 626/1994 dispone che il datore di lavoro designi il responsabile - che deve possedere attitudini e capacità adeguate (non meglio precisate !) - tra coloro a cui sono affidati i compiti del servizio di prevenzione e protezione.

Il datore di lavoro può avvalersi di persone esterne all'azienda in possesso delle conoscenze necessarie per integrare l'azione di prevenzione e protezione; infatti, "se la capacità dei dipendenti all'interno dell'azienda ovvero dell'unità produttiva è insufficiente, può far ricorso a persone o servizi esterni, previa consultazione col rappresentante dei lavoratori per la sicurezza" (art. 8, sesto comma).

I componenti il servizio di prevenzione e protezione devono essere in numero sufficiente e possedere le capacità adeguate allo svolgimento dei relativi compiti.

#### *Comunicazione agli uffici pubblici*

Il datore di lavoro comunica all'Ispettorato del lavoro e all'organo di vigilanza territorialmente competente il nominativo della persona designata come responsabile del servizio di prevenzione e protezione, interno ovvero esterno all'azienda (art. 8, ultimo comma, prima parte, del D.Lgs. 626/1994). Tale comunicazione deve essere corredata da una dichiarazione nella quale si attestino, con riferimento alle persone designate, i compiti svolti in materia di prevenzione e protezione, il periodo nel quale tali compiti sono stati svolti, nonché il curriculum professionale (art. 8, ultimo comma, seconda parte) delle stesse.

#### *Delega*

E' delegabile l'obbligo di designare gli addetti al servizio di prevenzione e pro-

tezione, ma non quello di designare il relativo responsabile (art. 1, comma 4 ter, D.Lgs. n. 626/1994).

#### ***7.4. Compiti del servizio di prevenzione e protezione***

- I compiti del servizio di prevenzione e protezione sono (art. 9, D. Lgs. 626/1994):
- individuare i fattori di rischio, valutare i rischi e individuare le misure per la sicurezza e la salubrità degli ambienti di lavoro, nel rispetto della normativa vigente e sulla base della specifica conoscenza dell'organizzazione aziendale;
  - elaborare, per quanto di competenza, le misure preventive e protettive e i sistemi che il datore deve "individuare" nel documento di valutazione dei rischi ai sensi dell'art. 4, secondo comma, lettera b e i sistemi di controllo di tali misure;
  - elaborare le procedure di sicurezza per le varie attività aziendali;
  - proporre i programmi di informazione e formazione dei lavoratori;
  - partecipare alle consultazioni in materia di tutela della salute e di sicurezza previste dall'art. 11 (riunione periodica di prevenzione e protezione dai rischi);
  - fornire ai lavoratori le informazioni di cui all'art. 21.

In ogni caso, il servizio di protezione e prevenzione - anche quando è interno all'azienda - non ha potere di disporre autonomamente le misure di sicurezza (a meno che, ovviamente, i componenti del servizio non rivestano anche la qualifica di preposto o appartengano alla categoria dei dirigenti con specifiche attribuzioni in materia di igiene e sicurezza), ma svolge una funzione "consultiva obbligatoria" del datore di lavoro.

#### ***7.5. Obbligo di informazione al servizio di prevenzione e protezione***

Il datore di lavoro fornisce al servizio di prevenzione e protezione informazioni in merito alla natura dei rischi, all'organizzazione del lavoro, alla programmazione delle misure preventive e protettive, alla descrizione degli impianti e dei processi produttivi, ai dati del registro infortuni e alle prescrizioni degli organi di vigilanza (art. 9, comma 2)

I componenti del servizio sono tenuti al segreto in ordine ai processi lavorativi di cui vengono a conoscenza nell'esercizio delle loro funzioni (art. 9, comma 3)

#### ***7.6. Prerogative dei componenti il servizio di prevenzione e protezione***

Il responsabile e gli addetti al servizio di prevenzione e protezione che siano dipendenti dal datore di lavoro non possono subire pregiudizio a causa dell'attività svolta (art. 8, comma 3, ultima parte). Essi devono disporre di mezzi e di tempo adeguati per lo svolgimento dei compiti loro assegnati (art. 8, comma 3, prima parte).

### ***8. Rappresentante dei lavoratori per la sicurezza.***

#### ***8.1 Generalità***

Il D. Lgs. 626/1994 disciplina le rappresentanze dei lavoratori per la sicurezza (art. 4, quinto, sesto e undicesimo comma; art. 8, sesto comma; art. 10, primo

comma; art. 11, lett. d; art. 18; art. 19; art. 22, quarto comma) e, attraverso norme rivolte ad una maggiore responsabilizzazione dei lavoratori anche attraverso l'obbligo dell'informazione, formazione e consultazione, realizza un vero e proprio sistema aziendale per la sicurezza e la protezione della salute dei lavoratori, basato sulla partecipazione dell'azienda e dei lavoratori e loro rappresentanti, finalizzata proprio alla sicurezza.

Nelle aziende (o unità produttive) che occupano sino a 15 dipendenti, il rappresentante per la sicurezza:

- è eletto direttamente dai lavoratori al loro interno;
- può essere individuato per più aziende nell'ambito territoriale ovvero in quello produttivo ;
- può essere designato o eletto dai lavoratori nell'ambito delle rappresentanze sindacali, così come definito dalla contrattazione collettiva di riferimento.

Nelle aziende ovvero unità produttive con più di 15 dipendenti, il rappresentante per la sicurezza è designato dai lavoratori nell'ambito delle rappresentanze sindacali in azienda ma, in assenza di tali rappresentanze, è eletto dai lavoratori dell'azienda al loro interno.

Il numero minimo dei rappresentanti dei lavoratori per la sicurezza è il seguente:

- a) un rappresentante nelle aziende ovvero unità produttive sino a 200 dipendenti;
- b) tre rappresentanti nelle aziende ovvero unità produttive da 201 a 1.000 dipendenti;
- c) sei rappresentanti in tutte le altre aziende ovvero unità produttive.

## **8.2. Prerogative del rappresentante per la sicurezza**

L'art. 19 del D.Lgs. 626/1994 attribuisce al *rappresentante per la sicurezza* un ruolo di primaria importanza quale soggetto fondamentale che partecipa al processo di gestione della sicurezza dei luoghi di lavoro. A tal fine il rappresentante per la sicurezza deve disporre del tempo necessario allo svolgimento dell'incarico senza perdita di retribuzione, nonché dei mezzi necessari per l'esercizio delle funzioni e delle facoltà riconosciutegli dalla legge con le suddette finalità.

Il rappresentante per la sicurezza:

- a) accede ai luoghi di lavoro in cui si svolgono le lavorazioni;
- b) è consultato preventivamente e tempestivamente in ordine alla valutazione dei rischi, alla individuazione, programmazione, realizzazione e verifica della prevenzione nell'azienda ovvero unità produttiva;
- c) è consultato sulla designazione degli addetti al servizio di prevenzione, all'attività di prevenzione incendi, al pronto soccorso, all'evacuazione dei lavoratori dalla sede di lavoro in casi di emergenza;
- d) è consultato in merito all'organizzazione della formazione degli incaricati all'attività di pronto soccorso, alla lotta antincendio e all'evacuazione dei lavoratori;
- e) riceve le informazioni e la documentazione aziendale inerente la valutazione dei rischi e le relative misure di prevenzione, nonché quelle inerenti le sostanze e i preparati pericolosi, le macchine, gli impianti, l'organizzazione e gli ambienti di lavoro, gli infortuni e le malattie professionali;
- f) riceve le informazioni provenienti dai servizi di vigilanza;

- g) riceve una formazione adeguata e, comunque, non inferiore a quella prevista dall'art. 22 del decreto legislativo in oggetto;
- h) promuove l'elaborazione, l'individuazione e l'attuazione delle misure di prevenzione idonee a tutelare la salute e l'integrità fisica dei lavoratori;
- i) formula osservazioni in occasione di visite e verifiche effettuate dalle autorità competenti;
- l) partecipa alla riunione periodica di cui all'art. 11 del decreto legislativo;
- m) fa proposte in merito all'attività di prevenzione;
- n) avverte il responsabile dell'azienda dei rischi individuati nel corso della sua attività;
- o) può fare ricorso alle autorità competenti, qualora ritenga che le misure di prevenzione e protezione dai rischi adottate dal datore di lavoro e i mezzi impiegati per attuarle non siano idonee a garantire la sicurezza e la salute durante il lavoro.

### **9. Obbligo di informazione.**

Ai sensi dell'art. 21 del D.Lgs. 626/1994, il datore di lavoro, il dirigente ed il preposto nell'ambito delle rispettive attribuzioni e competenze provvedono affinché ciascun lavoratore riceva un'adeguata informazione su:

- a) i rischi per la sicurezza e la salute connessi all'attività dell'impresa in generale;
- b) le misure e le attività di protezione e prevenzione adottate;
- c) i rischi specifici cui è esposto in relazione all'attività svolta, le normative di sicurezza e le disposizioni aziendali in materia;
- d) i pericoli connessi all'uso delle sostanze e dei preparati pericolosi, sulla base delle schede dei dati di sicurezza previste dalla normativa vigente e dalle norme di buona tecnica;
- e) le procedure che riguardano il pronto soccorso, la lotta antincendio, l'evacuazione dei lavoratori;
- f) il responsabile del servizio di prevenzione e protezione ed il medico competente;
- g) i nominativi dei lavoratori incaricati di applicare le misure di cui agli articoli 12 e 15 del D.Lgs. 626/ 1994.

Va rilevato che l'obbligo di informare il singolo lavoratore sui rischi specifici non significa che il destinatario della norma sia obbligato a spiegare di volta in volta al lavoratore il modo di comportarsi in qualsiasi operazione elementare propria della sua attività e del suo livello professionale ma impone piuttosto di segnalare, in via preliminare e una volta per sempre, quali rischi specifici caratterizzano la sua attività lavorativa, che risultano evidenti dall'esemplificazione dei mezzi e delle modalità tramite le quali i lavoratori devono essere informati (Cass., sez. pen., 23 marzo 1994, n. 3483).

Dal canto loro, i lavoratori sono tenuti all'osservanza delle disposizioni e delle istruzioni impartite loro dal datore di lavoro, dai dirigenti e dai preposti, ai fini della protezione collettiva ed individuale (art. 5, D.Lgs. 626/ 1994).

#### *Il ruolo del servizio prevenzione e protezione.*

Pur essendo obbligo proprio del datore di lavoro, dirigente e preposto, nell'ambito delle rispettive attribuzioni e competenze, le informazioni sono materialmente

fornite dal servizio di prevenzione e protezione che, tra l'altro, ha il compito di proporre i programmi di informazione e formazione dei lavoratori (art. 9 del D.Lgs. 626/1994).

#### *Obblighi di informazione del medico competente*

- Ai sensi dell'art. 17, lett. e, f ed m del D.Lgs. 626/1994, il medico competente:
- fornisce informazioni ai lavoratori sul significato degli accertamenti sanitari cui sono sottoposti e, nel caso di esposizione ad agenti con effetti a lungo termine, sulla necessità di sottoporsi ad accertamenti sanitari anche dopo la cessazione dell'attività che comporta l'esposizione a tali agenti; fornisce altresì, a richiesta, informazioni analoghe ai rappresentanti dei lavoratori per la sicurezza;
  - informa ogni lavoratore interessato dei risultati degli accertamenti sanitari e, a richiesta dello stesso, gli rilascia copia della documentazione sanitaria;
  - collabora all'attività di formazione e informazione.

#### **9. Obbligo di formazione**

La circostanza che la lett. s) dell'art. 3 del D.Lgs. 626/1994 imponga, tra le altre misure generali di prevenzione e protezione, l'obbligo di fornire adeguate istruzioni ai lavoratori, rivela la funzione strumentale della formazione quale misura di sicurezza fondamentale per l'acquisizione dei comportamenti corretti dei lavoratori, in particolare per far fronte ai rischi residui (circolare n. 30 del 1998 del Ministero del Lavoro).

Ai sensi dell'art. 22 del D.Lgs. 626/1994 "il datore di lavoro o il dirigente assicura che ciascun lavoratore, ivi compresi i lavoratori di cui all'art. 1, comma 3" - cioè i lavoratori a domicilio e quelli con contratto di portierato di diritto privato - del D.Lgs. medesimo "ricevano una formazione sufficiente ed adeguata in materia di sicurezza e di salute, con particolare riferimento al proprio posto di lavoro ed alle proprie mansioni".

La formazione deve avvenire in occasione:

- a) dell'assunzione;
- b) del trasferimento o del cambiamento di mansioni;
- c) dell'introduzione di nuove attrezzature di lavoro o di nuove tecnologie, di nuove sostanze e preparati pericolosi.

La formazione deve essere periodicamente ripetuta, in relazione all'evoluzione dei rischi ovvero all'insorgenza di nuovi rischi.

Ai sensi dell'art. 1 del D.M. 16 gennaio 1997, i contenuti della formazione dei lavoratori devono essere commisurati alle risultanze della valutazione dei rischi e devono riguardare almeno:

- a) i rischi riferiti al posto di lavoro ed alle mansioni, nonché i possibili danni e le conseguenti misure e procedure di prevenzione e protezione;
- b) nozioni relative ai diritti e doveri dei lavoratori in materia di sicurezza e salute sul posto di lavoro;

### *Formazione del rappresentante dei lavoratori per la sicurezza.*

La lettera g dell'art. 19 e l'art. 22, comma 4 del D.Lgs. 626/1994 stabiliscono che il rappresentante per la sicurezza ha diritto ad una formazione adeguata e specifica in materia di salute e sicurezza, concernente la normativa in materia di sicurezza e i rischi specifici esistenti nel proprio ambito di rappresentanza, che sia comunque tale da assicurargli nozioni congrue sulle principali tecniche di controllo e prevenzione dei rischi stessi.

Con il D.M. del 16 gennaio 1997 i contenuti della formazione del rappresentante dei lavoratori per la sicurezza sono i seguenti:

- a) principi costituzionali e civilistici;
- b) legislazione generale e speciale in materia di prevenzione degli infortuni e igiene del lavoro;
- c) principali soggetti coinvolti e relativi obblighi;
- d) definizione e individuazione dei fattori di rischio;
- e) valutazione dei rischi;
- f) individuazione delle misure (tecniche, organizzative, procedurali) di prevenzione e protezione;
- g) aspetti normativi dell'attività di rappresentanza dei lavoratori;
- h) nozioni di tecnica della comunicazione.

La durata dei corsi per i rappresentanti dei lavoratori è di trentadue ore, fatte salve determinazioni diverse della contrattazione collettiva.

### *Formazione dei lavoratori incaricati di gestire l'emergenza*

Ai sensi del quinto comma dell'art. 22 del D.Lgs. 626/1994, i lavoratori incaricati dell'attività di prevenzione incendi e lotta antincendio, di evacuazione dei lavoratori in caso di pericolo grave ed immediato, di salvataggio, di pronto soccorso e, comunque, di gestione dell'emergenza devono essere adeguatamente formati.

### *Documentazione dell'avvenuta formazione*

L'attestazione della avvenuta formazione deve essere conservata in azienda a cura del datore di lavoro.

### *Informazione e formazione sulla segnaletica di sicurezza*

Ai sensi dell'art. 4 del D.Lgs. 494/1996, il datore di lavoro provvede affinché:

- a) il rappresentante dei lavoratori per la sicurezza sia informato di tutte le misure adottate e da adottare riguardo alla segnaletica di sicurezza impiegata all'interno dell'impresa ovvero dell'unità produttiva;
- b) i lavoratori siano informati di tutte le misure adottate riguardo alla segnaletica di sicurezza impiegata all'interno dell'impresa ovvero dell'unità produttiva.

Il datore di lavoro provvede, inoltre, affinché il rappresentante dei lavoratori per la sicurezza ed i lavoratori stessi ricevano una formazione adeguata, in particolare sotto forma di istruzioni precise, che devono avere per oggetto soprattutto il significato della segnaletica di sicurezza, soprattutto quando questa comporti l'uso di gesti

o di parole specifiche, nonché i comportamenti generici e specifici da seguire.

#### **10. Formazione e informazione in relazione a particolari situazioni di rischio**

Nelle attività lavorative in settori che comportano un rischio particolare o rilevabile *a priori*, la normativa vigente dispone un livello specifico di formazione e informazione per quanto attiene all'uso di singole attrezzature, sia in quanto possibili fonti di rischio, sia come strumenti utili (e obbligatori !) per realizzare un livello accettabile di sicurezza. Per quanto attiene a settori di più stretta competenza veterinaria, basterà riferirsi alle attività che si svolgono in un macello, in uno stabilimento di lavorazione e trasformazione delle carni o altre derrate di O.A. e in un'azienda zootecnica, in cui il rischio può derivare dall'uso incorretto o incosciente di mezzi da taglio, di strumenti di contenzione o di protezione e fuga dall'aggressione di grandi animali o dalla movimentazione di carichi sospesi (linee di macellazione, ecc.).

*Attrezzature di lavoro* (ad esempio *coltelli, attrezzi motorizzati per taglio, ecc.*)

Ai sensi dell'art. 37 del D.Lgs. 626/1994, il datore di lavoro provvede affinché, per ogni attrezzatura di lavoro a disposizione, i lavoratori incaricati dispongano di ogni informazione e di ogni istruzione d'uso necessaria in rapporto alla sicurezza e relativa:

- a) alle condizioni di impiego delle attrezzature, anche sulla base delle conclusioni eventualmente tratte dalle esperienze acquisite nella fase di utilizzazione delle attrezzature medesime;
- b) alle situazioni anormali prevedibili.

Le informazioni e le istruzioni d'uso devono risultare comprensibili ai lavoratori interessati.

Ai sensi dell'art. 38 dello stesso D.Lgs., il datore di lavoro si assicura che:

- a) i lavoratori incaricati di usare le attrezzature di lavoro ricevono una formazione adeguata sull'uso delle attrezzature di lavoro;
- b) i lavoratori incaricati dell'uso delle attrezzature che richiedono conoscenze e responsabilità particolari di cui all'art. 35, comma 5, ricevono un addestramento adeguato e specifico, che li metta in grado di usare tali attrezzature in modo idoneo e sicuro, anche in relazione ai rischi per ad altre persone.

I lavoratori si devono sottoporre ai programmi di formazione o di addestramento eventualmente organizzati dal datore di lavoro e sono tenuti a utilizzare le attrezzature di lavoro messe a loro disposizione conformemente all'informazione, alla formazione ed all'addestramento ricevuti.

*Dispositivi di protezione individuale o DPI* (ad esempio *guanti e protezioni antitaglio*)

Il datore di lavoro, ai sensi dell'art. 43, lett. c), e) ed f) del D.Lgs. 626/1994, fornisce istruzioni comprensibili per i lavoratori, informa preliminarmente il lavoratore dei rischi dai quali il DPI lo protegge e rende disponibili, nell'azienda ovvero unità produttiva, informazioni adeguate su ogni DPI.

Lo stesso datore di lavoro, inoltre, assicura una formazione adeguata e organizzata, se necessario, uno specifico addestramento circa l'uso corretto ed efficace dei DPI.

I lavoratori utilizzano i DPI messi a loro disposizione conformemente all'informazione e alla formazione ricevute e all'addestramento eventualmente organizzato.

*Movimentazione manuale dei carichi* (ad esempio *movimentazione di mezzene, animali vivi, ecc*)

Il datore di lavoro fornisce ai lavoratori informazioni, in particolare per quanto riguarda:

- a) il peso di un carico;
- b) la movimentazione corretta dei carichi e i rischi che i lavoratori corrono se queste attività non vengono eseguite in maniera corretta, tenuto conto degli elementi di cui all'allegato VI del D.Lgs 626/1994.

Il datore di lavoro assicura ai lavoratori una formazione adeguata anche per i rischi derivanti da questa attività (art. 49, D.Lgs. n. 626/1994).

*Videoterminali*: esiste una normativa di prevenzione specifica, applicabile, ad esempio, per il lavoro amministrativo o di videocontrollo delle strutture e attività di interesse veterinario.

#### *Agenti biologici*

Ai sensi dell'art. 85 del D.Lgs. 626/1994, nelle attività per le quali la valutazione dei rischi evidenzia pericoli per la salute dei lavoratori derivanti da esposizione ad agenti biologici, il datore di lavoro fornisce ai lavoratori, sulla base delle conoscenze disponibili, informazioni ed istruzioni, in particolare per quanto riguarda:

- a) i rischi per la salute dovuti agli agenti biologici utilizzati;
- b) le precauzioni da prendere per evitare l'esposizione agli agenti biologici;
- c) le misure igieniche da osservare;
- d) la funzione degli indumenti di lavoro e protettivi e dei dispositivi di protezione individuale ed il loro corretto impiego;
- e) le procedure da seguire per la manipolazione di agenti biologici ;
- f) il modo di prevenire il verificarsi di infortuni e le misure da adottare per ridurre al minimo le conseguenze.

L'informazione e la formazione di cui sopra sono fornite prima che i lavoratori siano adibiti alle attività in questione e devono essere ripetute con frequenza almeno quinquennale e, comunque, ogniqualvolta si verificano nelle lavorazioni cambiamenti che influiscono sulla natura e sul grado dei rischi.

Nel luogo di lavoro sono apposti in posizione ben visibile cartelli su cui sono riportate le procedure da seguire in caso di infortunio od incidente.

### **11. Obbligo di sorveglianza.**

Il datore di lavoro, il dirigente ed il preposto richiedono l'osservanza, da parte dei singoli lavoratori, delle norme e delle disposizioni aziendali in materia di sicurezza e sull'uso dei mezzi di protezione collettivi ed individuali messi a loro disposizione. Pertanto essi sono tenuti non solo a predisporre le misure di sicurezza, ma anche a sorvegliare ed esigere che esse siano realmente impiegate (art. 4 del D.P.R. 547/1955; art. 4 del D.P.R. 303/1956; art. 4, quinto comma del D.Lgs. 626/1994).

L'obbligo di "esigere" l'uso dei dispositivi di sicurezza consiste non solo nella prescrizione continua di tale uso, ma anche nella minaccia di sanzioni disciplinari in

caso di inosservanza delle misure di sicurezza e, se necessario, nella effettiva irrogazione di dette sanzioni.

La giurisprudenza ha addirittura affermato che il datore di lavoro è responsabile di inosservanza delle normativa antinfortunistica anche quando si sia limitato ad irrogare una multa anziché una più grave sanzione, nonostante che a seguito della multa il lavoratore abbia continuato a rifiutare l'adozione delle misure di sicurezza (Cass. pen. 6 aprile 1993, n. 3160; Cass. pen. 25 ottobre 1991, n. 10730) o, ancora, quando il datore di lavoro non abbia posto in essere un controllo "...continuo e pressante per imporre che i lavoratori rispettino le norme antinfortunistiche, si adeguino alle misure in esse previste e sfuggano alla superficiale tentazione di trascurarle..." (Cass. pen. 14 dicembre 2000, n. 13012).

Emblematica appare in tal senso la pronuncia della Suprema Corte secondo cui "...le norme antinfortunistiche sono previste dal legislatore anche per prevenire le imprudenze del lavoratore e spetta incondizionatamente al datore di lavoro adottare i presidi di sicurezza previsti dalla legge o suggeriti dalla migliore tecnica del settore..." (Cass. pen., 7 dicembre 2000, n. 12775).

La responsabilità è esclusa solo quando il lavoratore abbia posto in essere un atto del tutto imprevedibile ed esorbitante l'attività lavorativa. Detto principio è stato ribadito da una sentenza della Corte di Cassazione (3 novembre 1998, n. 11481), che afferma: "chi è responsabile della organizzazione e della sicurezza del lavoro, qualora assicuri complete misure di sicurezza, informazione compiuta ai dipendenti, predisposizione adeguata del sistema lavoro, deve poter contare sull'esatto adempimento delle regole di lavoro da parte dei lavoratori ... con uso normale di diligenza da parte degli stessi".

In questa medesima ottica, la giurisprudenza ha riconosciuto che l'obbligo di sorveglianza è meno rigido con riferimento a soggetti (ad esempio, operai specializzati) dotati di vasta esperienza (Cass. pen. 17 maggio 1993 n. 5064) ma, coerentemente, ha evidenziato che detto obbligo assume connotazioni particolarmente intense nel caso in cui il destinatario sia un lavoratore la cui situazione soggettiva richieda un'attenzione maggiore, ad esempio:

- il lavoratore assunto con contratto di formazione e lavoro;
- il lavoratore di lingua straniera.

## **12. Valutazione dei rischi.**

L'obiettivo della valutazione dei rischi consiste nel consentire al datore di lavoro di prendere i provvedimenti che sono effettivamente necessari per salvaguardare la sicurezza e la salute dei lavoratori.

### **12.1. Il quadro normativo**

Anche l'obbligo di effettuare la valutazione del rischio e gli adempimenti documentali conseguenti (piano di sicurezza aziendale) è previsto e disciplinato dal D.Lgs. 626/1994, in particolare dall'art. 4, commi secondo (obbligo in genere), terzo (obbligo di tenere copia del documento scaturente dalla valutazione del rischio presso l'azienda), sesto (obbligo di effettuare la valutazione del rischio con la collabora-

zione del medico competente, del responsabile del servizio di protezione e prevenzione e previa consultazione del rappresentante dei lavoratori per la sicurezza), nonché decimo (previsione di decreti ministeriali che dettino procedure standardizzate per le piccole e medie aziende).

A quest'ultimo riguardo si deve rilevare che il D.M. 5 dicembre 1996 prevede procedure standardizzate per la redazione del documento di valutazione, soprattutto per le aziende agricole e forestali che occupano fino a 10 addetti a tempo indeterminato, delle aziende della pesca fino a 20 addetti, delle aziende industriali fino a 30 addetti e delle altre aziende fino a 200 addetti, per le quali, in effetti, le stesse procedure sono più semplici.

La circolare del Ministero del lavoro n. 102 del 7 agosto 1995 fornisce ulteriori chiarimenti e riferimenti pratici sulla predisposizione del documento relativo alla valutazione dei rischi.

L'obbligo di effettuare la valutazione dei rischi e gli obblighi a questa conseguenti non sono delegabili.

### ***12.2. Obbligo di effettuare la valutazione del rischio e redigere il piano di sicurezza***

Il datore di lavoro - e non anche, espressamente, il dirigente ed il preposto - deve elaborare un documento contenente una relazione sulla valutazione dei rischi per la sicurezza e la salute durante il lavoro, nella quale sono specificati i criteri adottati per la valutazione stessa, l'individuazione delle misure di prevenzione e di protezione e dei dispositivi di protezione individuale conseguenti alla predetta valutazione, nonché il programma delle misure ritenute opportune per garantire il miglioramento nel tempo dei livelli di sicurezza (c.d. piano di sicurezza) in conseguenza della valutazione di cui sopra (art. 4, secondo comma, del D.Lgs. 626/1994).

L'obbligo della valutazione dei rischi e dell'elaborazione del documento di cui sopra deve essere adempiuto dal datore di lavoro in collaborazione con il responsabile del servizio di prevenzione e protezione e con il medico competente, nei casi in cui è obbligatoria la sorveglianza sanitaria, previa consultazione del rappresentante per la sicurezza (art. 4, sesto comma, D.Lgs. 626/1994).

Tale obbligo riguarda anche le piccole e medie aziende, per le quali (art. 4, nono comma, D.Lgs. 626/1994) è prevista l'emanazione di un decreto ministeriale che definisca "procedure standardizzate".

Il documento di cui sopra deve essere custodito presso l'azienda ovvero l'unità produttiva (art. 4, terzo comma, D.Lgs. 626/1994) e può essere consultato dal rappresentante dei lavoratori per la sicurezza (art. 19, ultimo comma, D.Lgs. 626/1994).

Le aziende familiari o che occupano fino a 10 addetti non sono soggette all'obbligo di elaborare il documento contenente la valutazione dei rischi e il c.d. piano di sicurezza, ma sono tenute a autocertificare per iscritto l'avvenuta effettuazione della valutazione dei rischi e l'adempimento degli obblighi ad essa collegati.

### ***12.3. La pianificazione della sicurezza nel documento di valutazione dei rischi.***

La pianificazione delle azioni finalizzate a soddisfare i requisiti di sicurezza è attuata mediante il Documento di Valutazione dei Rischi.

Il processo logico da seguire per la pianificazione della sicurezza, cui corrispondono adeguate parti del Documento, si articola nelle seguenti fasi:

- ◆ individuazione delle attività e delle modalità lavorative in relazione alle attrezzature utilizzate;
- ◆ analisi dei rischi connessi con le attività e le modalità di lavoro;
- ◆ applicazione dei presidi, modifica della modalità o delle attrezzature, variazione dell'organizzazione del lavoro secondo quanto previsto dalle leggi vigenti e consentito dalle tecnologie reperibili;
- ◆ analisi dei rischi residui (quelli che restano dopo aver applicato tutti i presidi detti al punto precedente);
- ◆ individuazione dei provvedimenti per l'eliminazione o la riduzione a livelli accettabili di tali rischi, mediante interventi tecnici, organizzativi e di formazione;
- ◆ programmazione e attuazione degli interventi individuati con priorità legate alla criticità delle diverse situazioni;
- ◆ pianificazione dei controlli per verificare l'efficacia di quanto attuato o per modificare le analisi ed i programmi stabiliti.

Obiettivo primario della valutazione dei rischi, dunque, è di fornire al datore di lavoro gli elementi tecnici necessari per assumere i provvedimenti utili a salvaguardare la sicurezza e la salute dei lavoratori.

### *Considerazioni conclusive*

Quanto disposto nel D. Lgs. 626/1994 (e successive modifiche e integrazioni) sul miglioramento della sicurezza e della salute dei lavoratori sul luogo di lavoro, di cui si è cercato di dare i criteri che sono alla sua origine e gli obiettivi che questa normativa intende conseguire, coinvolge tutte le attività produttive e non fa certo eccezione per i veterinari.

Come si è visto, infatti, detta normativa rappresenta per i veterinari ben più di un interesse puramente speculativo, in particolare per quelli che operano a vario titolo nell'ambito di strutture produttive che prevedono obbligatoriamente la presenza o la supervisione dei veterinari stessi, sia come beneficiari della normativa stessa, sia come responsabili della sua stessa applicazione. Rientrano sicuramente fra questi ultimi i veterinari dipendenti da aziende agricole, da macelli o impianti di trasformazione, in cui i veterinari stessi svolgono attività dirigenziali attinenti alla loro professionalità.

Del resto, fra le 27 attività industriali considerate insalubri con rischio per la sicurezza e la salute umana paragonabile a quello delle industrie chimiche e degli impianti nucleari sono già comprese almeno 7 attività che coinvolgono i veterinari: allevamenti di animali, stalle di sosta, macelli, allevamenti di larve, scuderie, maneggi, salumifici e impianti di trasformazione delle carni, senza voler sottolineare più di tanto le attività diverse che attengono a vario titolo alla problematica (e ai rischi !) BSE.

Anche nelle attività suddette, dunque, il datore di lavoro è tenuto ad adottare, nell'esercizio dell'impresa, tutte le misure necessarie a "...tutelare l'integrità fisica e la personalità morale dei prestatori di lavoro" (art. 2087 c.c.), anche attraverso l'applicazione delle acquisizioni più recenti e più aggiornate sull'argomento.

E' evidente che l'applicazione di dette misure, per la loro complessità e per il loro stesso numero (per uno stabilimento di media grandezza, la normativa citata richiede complessivamente l'elaborazione di non meno di 50 diversi documenti !), non può essere realizzata personalmente dallo stesso imprenditore al quale, del resto, lo stesso D. Lgs. 626/1994 conferisce la possibilità di delegare alcuni adempimenti ed obblighi da esso derivanti.

In realtà, l'art. 4 del medesimo D.Lgs. dispone la designazione, da parte del datore di lavoro, del responsabile del servizio di prevenzione e protezione che, coordinando l'impegno di uno o più addetti allo stesso, provvede (art. 9) all'individuazione dei fattori di rischio, delle relative misure di sicurezza e di salubrità degli ambienti di lavoro e all'elaborazione delle misure preventive e protettive, ma non ha dunque il compito di curare l'applicazione pratica e "quotidiana" delle procedure di sicurezza da lui stesso elaborate, tanto più se, come consente lo stesso D. Lgs. 626/1994, il suddetto responsabile può essere di provenienza esterna rispetto all'azienda.

In realtà, l'adozione *in campo* e il rispetto di dette procedure compete in via primaria al datore di lavoro e, soprattutto, alla figura del **dirigente** che, la giurisprudenza riconosce – come già si è detto - nel lavoratore che con la sua attività influisca sull'intera azienda o, nelle strutture produttive di grandi dimensioni, su un ramo rilevante di questa, e, in quanto tale, è soggetto di norma al solo datore di lavoro o a un suo rappresentante qualificato e delegato.

Da quanto detto scaturisce inevitabile (e fondata !) l'ipotesi che il veterinario che opera in un macello o in un'azienda agricola in posizione gerarchica subordinata ma con mansioni dirigenziali possa trovarsi investito di responsabilità civili e penali consistenti e derivanti da eventi conseguenti alla mancata incompleta o incorretta applicazione delle procedure di sicurezza imposte dal D. Lgs. 626/1994.

La giurisprudenza ancora relativamente scarsa su detta normativa e alcune aree di dubbio che tuttora persistono nell'interpretazione del testo in più punti di non facile e univoca comprensione (non si dimentichi che detto decreto è il risultato del recepimento di ben undici direttive comunitarie !) non autorizzano dunque ad "abbassare la guardia" per quanto riguarda l'attribuzione di responsabilità penali (e quindi personali !) al veterinario nell'esercizio delle proprie competenze professionali in ambienti e posizioni gerarchiche che ricadano nella competenza del D. Lgs. In questione.

## RIASSUNTO

Gli AA. discutono l'applicabilità del D. Lgs. 626/1994 alle attività produttive che coinvolgono a vario titolo il veterinario.

The AA. discusses the applicability of L.D. 626/1994 about the safety and health at work to productive activities which anyway involve the veterinarian.

Les AA. discutent l'applicabilité du D.L. 626/1994 sur la sûreté et la santé pendant le travail aux activités productives qui impliquent le vétérinaire.

## TRE RISPOSTE ALLE SFIDE DELLA SICUREZZA ALIMENTARE: PRINCIPIO DI PRECAUZIONE, QUALITÀ, RINTRACCIABILITÀ

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

### *Introduzione*

I recenti eventi hanno determinato serie preoccupazioni tra i consumatori di alimenti di origine animale, che sono state aggravate da informazioni superficiali e spesso allarmistiche diffuse dai mezzi di comunicazione. Basterà in proposito rian- dare con la mente a quanto scritto e raccontato sui batteri farmacoresistenti, sul rischio sanitario per la contaminazione da parte delle micotossine a livello di filiera alimentare, sulla responsabilità dei PCB e delle Diossine, sull'insorgenza e diffusione della BSE ed infine sul problema, tutt'ora aperto, degli organismi geneticamente modificati. In tale contesto l'informazione del rischio fatta da persone scarsamente competenti ha indotto notevole confusione nel consumatore, tanto da "fissare" livelli di rischio diversi tra rischi reali e rischi percepiti dal consumatore.

Il problema attuale pertanto si concretizza in alcune specifiche peculiarità che comprendono *ricerca, buone pratiche di produzione, salubrità, genuinità, qualità e rintracciabilità*, concetti strettamente connessi che identificano la *sicurezza* alimentare non tanto come assenza di nocività o di pericolosità, ma come un continuo e costante controllo a livello dell'intera filiera produttiva. Nella fattispecie si rende quanto mai necessario *difendere* e valorizzare le materie prime, il territorio e la bio-diversità. Inoltre la *qualità* si collega, attualmente, al concetto di *competitività* e come tale deve essere considerata un punto di forza e di riferimento.

### *Stato dell'arte*

A farsi carico della complessità del problema relativo alla sicurezza alimentare sono due documenti: il primo denominato "Libro verde" emanato nel 1997 dalla Commissione Europea ed il secondo detto "Libro bianco", presentato nel 2000 dalla stessa Commissione Europea al Consiglio e al Parlamento Europeo, contenente proposte di elevati standard di sicurezza alimentare. Il "Libro bianco sulla sicurezza alimentare" presenta, in nove capitoli e in un allegato costituito da 84 punti, le misure da attuare per realizzare un "Piano d'azione sulla Sicurezza Alimentare" valutando un approccio completo ed integrato inerente l'intera catena alimentare negli Stati membri ed alla "frontiera" esterna della UE.

---

<sup>1</sup> Scuola di Specializzazione in "Diritto e Legislazione Veterinaria" – Università di Parma

<sup>2</sup> Dipartimento di Clinica Veterinaria – Università di Pisa

<sup>3</sup> Veterinario Dirigente 1° Livello – AzUSL n. 3 Pistoia

Il Parlamento Europeo nella sessione plenaria di Strasburgo conclusasi il 13.11.2001 ha espresso la sua posizione circa il regolamento che istituisce la nuova Autorità Europea per gli alimenti, responsabile dei principi normativi inerenti la legislazione alimentare dell'Unione Europea, finalizzati a rafforzare e garantire il nuovo regime di sicurezza all'interno dell'U.E. Il Parlamento Europeo ha inoltre suggerito alla Commissione di cambiarne la denominazione in Autorità Europea per la Sicurezza degli Alimenti (AESA) sottolineando in tal modo lo scopo precipuo in materia di sicurezza alimentare. In simile situazione quindi è previsto che tra i compiti della futura autorità figurino pareri scientifici sugli aspetti attinenti la salute ed il benessere degli animali, dell'ambiente e quelli relativi agli organismi geneticamente modificati.

Il principio di precauzione, menzionato come raccomandazione generale per la prima volta nella dichiarazione finale della Conferenza delle Nazioni Unite sull'ambiente di Stoccolma nel 1972 e ribadito in occasione della Conferenza delle Nazioni Unite sull'ambiente e sullo sviluppo di Rio de Janeiro del 1992, appare quale principio direttamente applicabile agli Stati contraenti. Nel Trattato di Unione Europea di Maastricht del 1992, il principio di precauzione diviene uno dei principi fondamentali su cui si basa tutta l'impostazione politica ambientale della Comunità, rifacendosi a quanto previsto nell'art. 174, par. 2, del Trattato di Roma: "La politica ambientale della Comunità in materia ambientale mira ad un elevato livello di tutela ... è fondata sui principi della precauzione e dell'azione preventiva, sul principio della correzione, in via prioritaria alla fonte, dei danni causati all'ambiente, nonché sul principio 'chi inquina paga'". Nonostante la menzione esclusivamente in riferimento alla politica ambientale, sia le istituzioni comunitarie che la Corte di Giustizia hanno a più riprese sottolineato che il principio di precauzione deve essere considerato un principio di applicazione generale e deve essere preso in considerazione e trovare applicazione in tutti quei settori considerati ad elevato livello di protezione: fra questi non sono certo all'ultimo posto la sicurezza alimentare e la tutela della salute dei consumatori. Da ciò consegue l'impegno che in prima persona deve assumersi il veterinario chiamato a svolgere attività relative alla definizione delle misure da utilizzare a livello di gestione del rischio da minimizzare o, se possibile, da eliminare.

A questo punto necessita puntualizzare che il principio di precauzione non deve essere assimilato al principio di prevenzione. Quest'ultimo infatti prevede l'utilizzo di mezzi finalizzati alla rimozione di un rischio scientificamente accertato e dimostrabile, mentre il principio di precauzione ha lo scopo di fornire elementi per un intervento di base quando la scienza non è in grado di dare risposte certe su rischi inaccettabili per la collettività. Quindi riguarda tutti i casi in cui i riscontri scientifici sono carenti o insufficienti e presuppongono approfondimenti alla luce dei nuovi dati scientifici. Infatti il principio di precauzione prevede "qualora, a seguito di una valutazione delle informazioni pertinenti disponibili, venga individuato un rischio per la salute ma permanga l'incertezza scientifica al riguardo, possono essere adottate misure preventive di gestione del rischio necessarie per garantire il livello elevato di tutela della salute che la Comunità persegue, in attesa di ulteriori informazioni scientifiche per una valutazione più esauriente del rischio." Il principio di precauzione scatta pertanto tutte le volte che ci si trova in presenza di una situazione di incertezza scientifica. Il concetto viene poi ripreso tanto che si specifica che "le misure adottate sulla base del precedente paragrafo sono proporzionate e prevedono le sole

restrizioni al commercio che siano necessarie per raggiungere il livello elevato di tutela della salute perseguito dalla Comunità, tenendo conto della realizzabilità tecnica ed economica e di altri aspetti pertinenti. Tali misure sono riesaminate entro un periodo di tempo ragionevole, a seconda della natura del rischio per la vita o per la salute individuato e del tipo di informazioni scientifiche necessarie per risolvere la situazione di incertezza scientifica e per realizzare una valutazione del rischio più esauriente.” Si tratta quindi di seguire, conoscere e valutare l’evoluzione scientifica per un corretto impiego del principio di precauzione le cui modalità andranno modificate in funzione della situazione di incertezza. *Sic stantibus rebus*, il principio di precauzione rivestirà sempre un carattere di provvisorietà sia per quanto attiene la situazione riscontrata sia per l’avvento di nuove acquisizioni che permettano una maggiore e migliore definizione del rischio. Il principio di precauzione pertanto non potrà mai essere considerato un traguardo definitivo, ma una tappa intermedia in costante divenire di un processo produttivo fino all’acquisizione di prove scientifiche certe e condivise in modo definitivo.

#### *Processo produttivo: realtà e prospettive della tracciabilità, ruolo del mercato*

A diversi livelli la descritta situazione coinvolge ruoli e competenze dei partecipanti della catena alimentare: agricoltori, allevatori, produttori di mangimi, produttori e operatori del settore alimentare in senso lato, autorità degli Stati membri e dei Paesi Terzi per i loro rapporti con l’U.E., la Commissione, i consumatori. Il ruolo e le responsabilità possono individuarsi per quanto concerne la sicurezza e la integrità delle materie prime da parte di chi produce. Responsabilità e ruoli competono anche alle autorità sanitarie per quanto riguarda programmi di monitoraggio, di ispezione e di vigilanza. Chiariti compiti e responsabilità, non può passare sotto silenzio il ruolo dei media, delle associazioni di settore e degli opinion leader per l’influenza che possono esercitare sugli utenti, il tutto finalizzato ad aumentare la fiducia dei consumatori allo scopo di incentivare i consumi ed il grado di fidelizzazione.

D’altra parte il mercato non ammette deroghe: *si deve produrre per vendere*. Oggi gli elementi chiave del mercato impongono *trasparenza ed informazione*, con un processo produttivo caratterizzato da specifiche peculiarità: a) essere un sistema programmato in filiera ad integrazione verticale; b) creare processi produttivi tracciabili; c) creare produzioni a qualità costante.

Obiettivo dell’intera catena produttiva è il consumatore, sia come utente diretto della produzione, che della catena di lavorazione e trasformazione della materia prima. Per questo ci si deve chiedere: come il mercato può e deve adeguarsi alle esigenze del consumatore? Il consumatore riesce a condizionare il mercato o è il mercato in grado di gestire i gusti e le esigenze del consumatore?

Indubbiamente, i media costituiscono un tramite notevole e spesso determinante fra mercato e consumatori, in quanto spesso sono più gli slogan a convincere che non i dati ed i riscontri scientifici, per loro natura poco accattivanti e, talvolta, scarsamente accessibili dal vasto pubblico.

Altri due aspetti della questione sono la rintracciabilità e l’educazione sanitaria.

Per quanto riguarda la *rintracciabilità*, riteniamo opportuno focalizzare l’attenzione sulle carni della specie bovina, anche per il notevole interesse che riveste in campo commerciale alla luce del recente problema BSE.

Il Regolamento (CE) n. 1760/2000 del Parlamento Europeo e del Consiglio “che istituisce un sistema di identificazione e di registrazione dei bovini relativo all’etichettatura delle carni bovine e dei prodotti a base di carne bovine, e che abroga il Regolamento (CE) n. 820/97 del Consiglio”, al fine di migliorare la fiducia dei consumatori e di garantire la sicurezza dei prodotti anche a livello commerciale fornendo indicazioni per quanto attiene la rintracciabilità, istituisce un sistema di informazioni per il consumatore prevedendo una idonea etichettatura chiara ed adeguata.

Il problema della rintracciabilità sottintende di consentire la ricostruzione di tutto il percorso, in modo chiaro e sicuro, del prodotto finito fino all’allevamento di provenienza con la possibilità di conoscere dell’animale: genetica, alimentazione, uniformità, qualità, stato di salute ed eventuali trattamenti farmacologici. Tutti questi dati vengono presi in considerazione anche dal “Libro bianco sulla sicurezza alimentare”. In tale ottica il sistema di identificazione comprende: identificazione delle aree di allevamento, registro di allevamento, identificazione dei capi di allevamento mediante marchi auricolari, banche dati informatizzate, passaporti per gli animali.

Lo schema fissato per le etichette prevede due tappe: la prima, entrata in vigore per le carni a partire dal 1° Settembre 2000, stabilisce l’indicazione del numero, o codice, dell’animale, del Paese del centro di macellazione, nonché del Paese del centro di sezionamento/disosso; la seconda fase, con decorrenza 1° Gennaio 2002, ha imposto che in etichetta venga riportato il luogo di nascita dell’animale e lo Stato in cui è avvenuto l’ingrasso, nonché lo Stato in cui ha avuto luogo la macellazione, indicando l’origine dello Stato (se Paese membro dell’UE o Paese terzo).

#### *Dalla fatalità alla politica della responsabilità*

Dall’analisi fatta finora emergono due aspetti: gestire un’impresa significa gestire dei rischi, a cui fa riscontro l’aspetto sicurezza e qualità del prodotto.

Un imperativo improcrastinabile circa la sicurezza igienica delle materie prime e dei prodotti finiti viene affrontato in sede normativa dal Decreto Legislativo (D.L.gs) n. 155 del 26 maggio 1997, che all’art. 2 definisce le misure necessarie per garantire “la sicurezza e la salubrità dei prodotti alimentari”. A sinergizzare tale programma esiste poi l’istituto dell’autocontrollo di esclusiva competenza del titolare dell’impresa o di un suo delegato. Essendo note le possibilità più svariate dei rischi di contaminazione dalle entità biotiche, alle entità abiotiche a quelle particellari (dalle materie prime, dai materiali di imballaggio e dagli impianti oltre a quelli legati all’ambiente e all’incuria degli operatori), è chiaro pertanto che gestire un’impresa significa gestire dei rischi con una conseguente serie di pericoli che ne possono addirittura minare la sopravvivenza. Per cui l’imprenditore moderno è stato definito da parte di un’agenzia altamente specializzata nel campo delle certificazioni di qualità, un “Manager Multirischi”.

Se il rischio può essere definito la misura del pericolo, la prevenzione deve essere intesa come il complesso delle disposizioni prese per ridurre la probabilità del rischio e la sicurezza come l’insieme delle disposizioni e dei programmi da attuare per garantire l’idoneità degli alimenti per il consumo umano dal punto di vista igienico, il controllo igienico-sanitario della filiera produttiva deve essere avallato da una idonea certificazione di qualità. La capacità infatti di fornire prodotti di qualità diventerà sempre più un elemento determinante per la sopravvivenza sul mercato. Va però

detto che il concetto di qualità è caratterizzato da una elevata relatività che ne rende difficile una chiara definizione ed una diretta applicazione, in quanto viene determinato da un insieme di componenti intrinseche (aspetti igienici, sanitari, nutrizionali), di servizio (conservabilità, facilità d'uso, prezzo) e tecniche (entità delle produzioni, adattabilità al trattamento) che fra loro interagiscono. Un requisito fondamentale rimane comunque sempre la sicurezza del prodotto, che deve essere garantita al massimo livello possibile per tutti gli alimenti e in nessun caso può essere considerata come un fattore di differenziazione.

Di particolare interesse è l'*Educazione Sanitaria* (ES), per il significato ed il supporto che può fornire all'azione del servizio veterinario. Si tratta di una attività del tutto nuova, scaturita dall'interpretazione del dettato della legge n. 833/78 per il suo carattere spiccatamente preventivo. L'ES, come sottolinea Valpreda (1993) non deve essere confusa con la formazione (anche se a questa è strettamente collegata) né con l'informazione (di cui può rappresentare una fase) e tanto meno con l'educazione alimentare. Compito dell'ES è di finalizzare l'informazione in funzione del settore in cui si opera e, ovviamente, degli obiettivi che ci si propone di realizzare. Dovrà avvalersi di un linguaggio il più possibile chiaro e completo, semplificato in funzione del livello culturale degli interlocutori, senza abbondare in termini tecnici. Dovrà puntare sulle capacità di convincimento, di motivazione e di coinvolgimento applicativo. A seconda dei destinatari, diversi dovranno essere gli approcci, chiarendo sempre obiettivi e finalità delle azioni sanitarie in ambito veterinario. Rivalutare l'importanza della sanità di base degli allevamenti, motivando provvedimenti e disposizioni per ottenere collaborazione e limitare la conflittualità. L'ES pertanto deve essere svolta più a livello "didattico" che allarmistico e di repressione. I destinatari saranno diversi a seconda delle aree in cui si opera: gli allevatori per quanto concerne il settore di sanità animale e di profilassi delle malattie infettive del bestiame; i cittadini, compresi i ragazzi in età scolare, per quanto attiene l'igiene urbana ed il problema delle zoonosi. Per quanto riguarda gli alimenti di origine animale il discorso dovrà essere molto ampio, fatto anche utilizzando strumenti diversi, quali articoli su riviste e quotidiani, filmati specifici, conferenze e convegni, corsi mirati, trasmissioni radiofoniche e televisive a sostegno della lotta all'impiego di anabolizzanti, di sostanze farmacologiche per trattamenti zootecnici e per la diffusione del dettato del D. L.gs n. 336/99. Sarà una ulteriore dimostrazione dell'azione di medicina preventiva cui è preposta la sanità pubblica veterinaria.

### *Conclusioni*

Con un rapido *excursus* abbiamo ritenuto soffermarci con talune riflessioni su argomenti di recente interesse a livello comunitario, ed ovviamente con riflessi di rilevanza nazionale, dopo le proposte contenute nel "Libro bianco sulla sicurezza alimentare". Il paniere dei prodotti di origine animale rappresenta oggi una realtà significativa alla quale l'UE propone strumenti legislativi completi per rimodellare i diversi requisiti in materia di controllo. Al Cap. 7 del "Libro Bianco" si dedica particolare attenzione all'informazione dei consumatori, specie per quanto riguarda il *rischio* che non deve essere più considerato una trasmissione passiva, ma va valutato in una dimensione interattiva caratterizzata da un dialogo fra operatori e utenti consumatori. In tale realtà il medico veterinario, sia privato che pubblico, entra a pieno titolo

assumendo un aspetto nuovo che lo identifica come manager, figura non ancora contemplata da alcuna delle numerose discipline del piano di studi delle nostre facoltà.

Ogni violazione di questi principi non fa che riportare indietro nel tempo, allontanandoci dal contesto europeo. La vera riforma pertanto consiste nell'acquisire professionalità e competenze al passo con la realtà attuale, come d'altra parte prevedeva già la legge n. 833/78, istitutiva del SSN, che privilegia l'aspetto della prevenzione.

Per quanto riguarda la sicurezza degli alimenti di origine animale ci si deve rivolgere a più utenze, non solo quindi al consumatore ma anche ai diversi responsabili che in vario modo interloquiscono nell'attività produttiva, valutandone i diversi approcci ai singoli anelli della "catena alimentare".

**RIASSUNTO** - Dopo una rapida disamina sull'attuale normativa relativa alla sicurezza alimentare, gli autori si soffermano ad esaminare ruoli e responsabilità degli operatori del settore alla luce anche di quanto proposto dal Libro Bianco di recente emanazione.

**SUMMARY** - After a brief evaluation of the current Laws regarding Food Safety, the Authors examine rules and responsibilities of the concerned people on the basis of the recent proposals of the "White Book on Food Safety."

#### *Riferimenti bibliografici*

- 1) Valpreda M. (1993). Educazione Sanitaria in veterinaria: le esperienze in Piemonte. Atti Corso Perfezionamento – Università di Parma, 201-204.
- 2) Biagi G., Signorini G., Nannipieri S., Romagnoli A. (1995). Il problema qualità: certificazione e autocontrollo all'interno della filiera produttiva ovi-caprina...
- 3) Mandolini F. (1996). Regolamentazione, Chindunologia-Assicuaione Qualità. Docenza Corso Perfezionamento, Parma.
- 4) Bruno F. (2000). Il Principio di Precauzione tra Diritto dell'Unione Europea e WTO. – Diritto e Giurisprudenza Agraria e dell'Ambiente, 10: 573-577.
- 5) Libro Bianco sulla Sicurezza Alimentare (2000).
- 6) Piva G.F. (2000). Qualità, Salubrità e Tracciabilità degli Alimenti. Atti Convegno "Modernizzazione e competitività dell'agricoltura", Mantova, 1-2 Dicembre, 41-52.
- 7) Atti del Convegno "Tracciabilità nella filiera suina europea: realtà e prospettive". PIC Italia S.p.A., Campogalliano, 12 Febbraio 2001.
- 8) Borrello S., Di Salvo A. (2001). Il Veterinario ispettore delle carni: quale futuro? Il Progresso Veterinario, 10, 488-490.
- 9) Anonimo (2001). Si moltiplicano le agenzie nazionali per la sicurezza alimentare. Settimana Veterinaria, 320, 10-11.
- 10) Anonimo (2001). Il principio di precauzione chiama in causa i veterinari. Settimana Veterinaria, 326, 26.

*Il lavoro spetta in parte uguale agli autori.*