



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI AGRONOMIA ANIMALI ALIMENTI RISORSE NATURALI  
E AMBIENTE

DIPARTIMENTO DI MEDICINA ANIMALE, PRODUZIONI E SALUTE

**Corso di laurea in Scienze e Tecnologie Animali**

Tesi di laurea:

**"EFFETTI DELLE MICOTOSSINE NELL'ALLEVAMENTO  
DELLA BOVINA DA LATTE: UN CASO AZIENDALE"**

Relatore:

**Ch.mo Prof. Giulio Cozzi**

Laureanda:

**Francesca  
Marcato**

Matricola n.:

**1027994**

*ANNO ACCADEMICO 2013-14*

## INDICE

<b>Riassunto</b>	pag.3
<b>Abstract</b>	pag.5
<b>Ringraziamenti</b>	pag.6
<b>1. Introduzione</b>	pag.7
1.1 <i>Micotossine</i>	pag.7
1.2 <i>Effetti tossici sugli animali</i>	pag.9
1.3 <i>Aflatossine</i>	pag.11
1.4 <i>Aflatossina B<sub>1</sub></i>	pag.12
1.5 <i>Zearalenone</i>	pag.13
1.6 <i>Carry-over</i>	pag.14
1.7 <i>Differenze tra ruminanti e monogastrici</i>	pag.15
<b>2. Obiettivo della tesi</b>	pag.17
<b>3. Materiali e metodi</b>	pag.19
3.1 <i>Descrizione dell'azienda</i>	pag.19
3.2 <i>Descrizione degli animali</i>	pag.21
3.3 <i>Programma di alimentazione delle bovine in lattazione</i>	pag.22
3.4 <i>Disegno sperimentale dello studio</i>	pag.23
3.5 <i>Protocollo dei rilievi</i>	pag.24
3.6 <i>Trattamento dei dati ed elaborazione statistica</i>	pag.25
<b>4. Risultati e discussione</b>	pag.27

**5. Conclusioni**

pag.43

**Bibliografia**

pag.45

## RIASSUNTO

Le micotossine sono metaboliti secondari prodotti da funghi, la maggior parte dei quali appartiene al genere *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*. Esse sono la principale causa di contaminazione degli alimenti zootecnici che vengono somministrati agli animali negli allevamenti (granelle di cereali, insilati e foraggi); vengono prodotte sia in campo, prima della raccolta del prodotto, oppure durante la fase di conservazione dello stesso in presenza di determinate condizioni meccaniche e ambientali favorevoli allo sviluppo fungino, tra cui in particolare, danni fisici alle cariossidi per opera di insetti, l'elevata umidità e la siccità. Le principali micotossine che vengono trattate successivamente sono le seguenti: aflatossine e lo zearalenone. Ciascuna di queste è responsabile dell'insorgenza di sindromi specifiche da tossicosi negli animali la cui gravità varia a seconda della concentrazione totale di micotossine ingerite dal soggetto con la dieta, dalla durata dell'esposizione ai loro effetti negativi, dall'età e dalla specie degli stessi animali. In genere, per via della presenza dei prestomaci (soprattutto il ruminale), i ruminanti sono meno sensibili alle tossicosi rispetto ai monogastrici grazie all'azione detossificante operata dai microrganismi ruminali; tuttavia alcune micotossine possono essere eliminate attraverso le urine e il latte. La seguente tesi mette in luce tutti i possibili effetti negativi prodotti dalle principali tossine, che si riscontrano comunemente negli alimenti impiegati in zootecnia, nei riguardi delle bovine da latte; inoltre si propone di analizzare la situazione all'interno dell'Azienda di vacche da latte di "Piccolo Riccardo e Francesco" situata a Piazzola sul Brenta; a partire dai dati, sono stati osservati e discussi le potenziali variazioni sia per quanto riguarda i trattamenti veterinari eseguiti che i cambiamenti in merito alla composizione quantitativa e qualitativa del latte prodotto dalle bovine alimentate con insilato e unifeed contenenti determinate concentrazioni di tossine e per un certo arco di tempo. Si è potuto osservare l'incidenza di specifiche lesioni e altri aspetti legati all'effetto di questi metaboliti secondari sugli animali. È stato quindi importante verificare i danni causati alla salute e in particolare alla sfera riproduttiva delle bovine e la riduzione delle loro prestazioni produttive; sono tutte tematiche di notevole rilevanza che vengono affrontate sempre più spesso negli allevamenti al fine di fornire agli animali alimenti di alta qualità, cercando di prevenire qualsiasi tipo di sviluppo fungino, in modo da tutelare il loro benessere ma allo stesso tempo quello del consumatore che utilizza i prodotti di loro derivazione.



## ABSTRACT

Mycotoxins are secondary metabolites produced by fungi, most of which belong to the genus *Aspergillus*, *Penicillium* and *Fusarium*. They are the main cause of contamination of animal feed that are administered to animals on farms (cereal grain, silage and fodder); both are produced in the field, before the collection of the product, or during storage in the presence of mechanical and environmental conditions conducive to fungal growth, including physical damage to the kernels by insects, the high humidity and drought. The main mycotoxins that are treated later are: aflatoxins, and zearalenone. Each of these is responsible for the onset of specific syndromes toxicosis in animals whose severity varies depending on the total concentration of mycotoxins swallowed by the animal with the diet, duration of exposure to their negative effects, the age and species of the same animals. Generally, due to the presence of forestomachs (especially the rumen), ruminants are less sensitive than monogastrics toxicosis with detoxifying action by ruminal microorganisms; however, some mycotoxins can be eliminated through the urine and milk. The following thesis highlights all possible negative effects produced by the major toxins that are found commonly in foods used in animal husbandry, with regard to milk cows; It also aims to analyse the situation within the dairy farm belonged to "Piccolo Riccardo e Francesco" located at Piazzola sul Brenta; from the data, have been observed and discussed potential changes both for veterinary treatments made the changes with regard to the quantitative and qualitative composition of the milk produced by cows fed with silage and unifeed containing certain concentrations of toxins and for a certain period of time. It is possible to observe the incidence of specific injuries and other issues related to the impact of these secondary metabolites in animals. It was therefore important to verify the damage caused to health and in particular to the reproductive sphere of bovine and reduction of their production performance; they are all important issues that are being addressed with increasing frequency on farms in order to provide high quality food to animals, trying to prevent any type of fungal development, so as to safeguard their well-being but at the same time the consumer who uses their products.

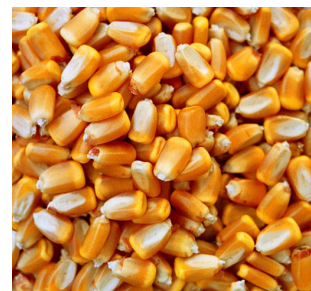
## **RINGRAZIAMENTI**

Vorrei ringraziare tutta la famiglia Piccolo per avermi accolto con tanto affetto e simpatia e per avermi permesso di svolgere tutte le ore di tirocinio presso l'azienda di vacche da latte e in caseificio; un grazie speciale a Piccolo Francesco che, con tanta pazienza e dedizione, mi ha insegnato molti aspetti sia pratici che teorici, mi ha introdotto nel mondo della zootecnia trasmettendomi una grande passione nei confronti degli animali, e dandomi l' incentivo a proseguire i miei studi su questa strada; mi ha, inoltre, consentito di effettuare esperienze utili a me nuove e mi ha dato l'opportunità di raccogliere i dati e le foto necessari a svolgere il lavoro per la mia tesi.

# 1. INTRODUZIONE

## 1.1 Micotossine:

Le micotossine sono sostanze naturali, sintetizzate da alcuni funghi microscopici, comunemente chiamati muffe, la cui ingestione è in grado di causare diversi effetti negativi sull'uomo e sugli animali: infatti (come descritto da **Coulombe R.A.,(1992)** si possono avere forme di tossicità acuta, cronica oppure vari disordini metabolici . Si tratta di molecole non necessarie per la crescita del fungo, che in



genere non svolgono un ruolo specifico nel processo infettivo, quindi sono considerate metaboliti secondari. Lo sviluppo fungino e la formazione di micotossine possono avvenire sia in campo, sulla pianta, che nelle successive fasi di conservazione. In particolare, l'eccessiva umidità del foraggio sia in campo sia durante la fase di conservazione e stoccaggio, estremi inadeguati di temperatura, la natura del substrato, lo stress della pianta (a causa della siccità), danni meccanici alle cariossidi, pratiche di raccolta eseguite in maniera non ottimale e l'attacco delle piante da parte degli insetti sono i principali fattori ambientali che determinano maggiormente la presenza e lo sviluppo delle micotossine negli alimenti zootecnici (**Coulombe R.A., 1992**).

**Tabelle 1.1A e 1.1B. Aggiornamenti sulla cinetica e sul meccanismo d'azione delle micotossine di interesse per la vacca ad latte**

Tabella 1.1A Principali micotossine, specie fungine tossigeniche ed alimenti contaminati		
Micotossine	Specie fungine	Alimenti contaminati
Aflatossine	<i>Aspergillus flavus</i> ; <i>A. parasiticus</i>	Cereali, arachidi, sorgo, cotone (oleaginose)
Ocratossina A	<i>A. ochraceus</i> ; <i>Penicillium</i> <i>P. cyclopium</i>	Cereali
Desossinival.	<i>Fusarium sporotrichioides</i> ; <i>F. graminearum</i> ; <i>F. poae</i>	Cereali
Tossina T2	<i>Fusarium sporotrichioides</i> ; <i>F.</i>	Cereali
Zearalenone	<i>F. culmorum</i> ; <i>F. graminearum</i> ; <i>F. sporotrichioides</i>	Cereali (mais)
Fumonisine	<i>F. moniliforme</i>	Mais
Ergopeptine (ergovalina)	<i>Acremonium coenophialum</i>	<i>Festuca arundinacea</i>
Tossine tremorgeniche (m) oltre	<i>Acremonium lolii</i>	<i>Lolium perenne</i>



**Tabella 1.1B**  
**Principali reazioni di biotrasformazione epatica di alcune micotossine nella specie bovina e loro tossicità rispetto alla molecola parente**

<i>Micotossine</i>	<i>Reazione metabolica</i>	<i>Metaboliti prodotti</i>	<i>Tossicità (+/-)</i>
Aflatoss. B1	- Ossidazione (vari e cancerog.) isoenzimi del cit. P450 (ma possibile epossidazione) - Riduzione - Coniugazione con GSH	AFeossido → AFM1-P1-Q1 →  Aflatossicolo → GS-coniugati →	+++ (epatotossico -)  +/- (riossidato ad AFB1) - (eliminati attraverso le urine)
Tossina T2	- Riduzione	HT2 →	++ (azione necrotizzante)
Ocratossina A durante	- Ossidazione (P450)	Vari OH-derivati →	?? (possibile genesi di metaboliti reattivi il metabolismo ossidativo)
DON	- Idrolisi	De-epossi DON →	-
Zearalenone	- Riduzione	β-zearalenolo →	- (azione estrogenica)

Oltre alla pericolosità dovuta alla possibile produzione di micotossine, lo sviluppo delle muffe nelle derrate alimentari provoca conseguenze ben precise (Yiannikours A., Jouany J.P., 2002).

Possono verificarsi:

- modificazione dell'aspetto;
- alterazione delle qualità organolettiche;
- alterazioni delle qualità tecnologiche: gli enzimi prodotti dai funghi idrolizzano i lipidi, l'amido, le proteine; inoltre, la crescita fungina provoca fenomeni di impaccamento nei sili;
- riduzione quantitativa e soprattutto qualitativa del valore alimentare: produzione di calore, anidride carbonica, acqua, perdita di aminoacidi essenziali, vitamine, ecc.
- rischi di micosi e di allergie per gli animali, ma anche per gli operatori;

Perciò la qualità iniziale delle materie prime, il controllo delle temperatura, dell'umidità e dell'ambiente di conservazione, i trattamenti fisici e chimici, la pulizia dei sili e dei trasporti sono la chiave del controllo dell'attività fungina.

## 1.2 Effetti tossici sugli animali:

Le micotossine sono in grado di produrre effetti tossici acuti, cancerogeni, mutageni, teratogeni, estrogeni, ed immunodepressori (Yiannikouris A., Jouany J.P., 2002); evidenziano diversi tipi di tossicità in dipendenza della dose, dell'organo interessato, del sesso, dell'età e della specie; quelle più diffuse e pericolose per



la salute, sono: aflatossine, ocratossina A, fumonisine, tricoteceni (in particolare il deossinivalenolo), zearalenone e patulina tutte riscontrabili nel mais ad eccezione dell'ultima. In particolare sono noti gli effetti negativi dello zearalenone e dei suoi metaboliti sulla maturazione degli oociti bovini. In termini di tossicità acuta, le micotossine presentano un rischio maggiore rispetto a contaminanti antropici, residui di pesticidi e additivi alimentari (Battilani P. et al., 2006).

**Tabella 1.2. Alcuni effetti tossici delle principali micotossine potenzialmente presenti nei cereali**

Micotossina	Effetto tossico
Aflatossina B <sub>1</sub>	Genotossico, cancerogeno, epatotossico, immunosoppressore
Ocratossina A	Nefrotossico, teratogeno, immunosoppressore, cancerogeno
Fuminosina B <sub>1</sub>	Neurotossico, cancerogeno, citotossico
Tricoteceni	Immunosoppressore, dermatotossico, emorragico
Zearalenone	Estrogenosimile

Le sindromi da tossicosi dovute a micotossine, le quali sono già tossiche a dosi molto basse, derivano, in generale, da lesioni dei seguenti tipi (Akande K.E., 2006 e Zuber M.S. et al., 1986):

- lesioni renali ed epatiche ( le micotossine sono epatonefro-tossiche e le lesioni compaiono piuttosto presto originando da degenerazione del parenchima, fibrosi e degenerazioni dei canalicoli biliari, edemi ed ematomi);
- lesioni ematiche e circolatorie che interessano cute, stomaco, intestino, fegato, reni,

- surreni, polmoni, encefalo. Nelle forme croniche si ha riduzione dell'attività emopoietica nel midollo osseo e conseguentemente leucopenia e linfocitosi;
- lesione nervosa cui conseguono forme convulsive, paresi motorie (arti posteriori) stasi e/o depressione della lattazione, ipofertilità nelle vacche (causa lesioni del sistema nervoso centrale);

La presenza di determinate micotossine negli alimenti destinati a bovine da latte è quindi particolarmente deleteria per una serie di motivi che possono essere così riassunti:

- riduzione del valore nutritivo della razione (effetto della contaminazione fungina);
- sindromi più o meno gravi (micotossicosi) spesso associate a ridotta produzione di latte;
- trasferimento di quote più o meno rilevanti di micotossine e dei loro metaboliti nel latte, con perdite di valore economico legate alla mancata utilizzazione di tale derrata.

Inoltre, come affermato da **Sharma R.P., 1992**, alcune micotossine, come l'aflatossina B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) e la tossina T-2 prodotta dal *Fusarium*, inibiscono la sintesi di alcune proteine e la proliferazione cellulare agendo in tal modo su determinate sottopopolazioni di linfociti responsabili della risposta immunitaria. Poiché quest'ultima si basa principalmente sulla sintesi di macromolecole e sulla replicazione cellulare, alcune micotossine inducono immunosoppressione e possono distruggere i tessuti corporei. L'AFB<sub>1</sub> è l'agente più tossico per il sistema immunitario e causa immunosoppressione in molte specie animali; la risposta immunitaria mediata dalle cellule T sembra essere più sensibile all'azione dell'aflatossina B<sub>1</sub>.

La tossina T-2 produce necrosi degli organi linfatici e può agire indirettamente sul meccanismo di produzione e rilascio dell'adrenalina da parte dell'asse ipotalamo-ipofisi; inoltre, anche l'ocratossina A e la patulina hanno effetti immunosoppressori.

Nella Tabella 1.2.1 vengono riportate le principali micotossine prodotte da diverse specie fungine e di seguito verrà fatta un'analisi più approfondita per alcune di queste e sugli effetti che esse provocano sugli animali; nello specifico sono state trattate le aflatossine e lo zearalenone, le quali hanno diverse ripercussioni sulla salute delle bovine da latte e sono connesse con il caso aziendale oggetto di studio.

**Tabella 1.2.1.I principali funghi e le loro micotossine**

Fungo	Micotossine
<i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. parasiticus</i> , <i>A. nomius</i>	<b>Aflatossina B1, B2, G1, G2</b>
<i>Penicillium verrucosum</i> , <i>Aspergillus clavatus</i>	<b>Ocratossina A</b>
<i>Penicillium expansum</i> , <i>P. urticae</i> , <i>Aspergillus clavatus</i> , <i>Byssochlamys nivea</i>	<b>Patulina</b>
<i>Fusarium sporotrichioides</i> , <i>F. graminearum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. poae</i> , <i>F. roseum</i> , <i>F. tricinctum</i> , <i>F. acuminatum</i>	Tricoteceni ( <b>deossinivalenolo</b> )
<i>Fusarium moniliforme</i> , <i>F. proliferatum</i>	<b>Fuminosine B1, B2, B3</b>
<i>Fusarium graminearum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. crookwellense</i>	<b>Zearalenone</b>
<i>F. moniliforme</i> , <i>F. crookwellense</i> , <i>F. subglutinans</i> , <i>F. sambucinum</i> , <i>F. napiforme</i> , <i>F. heterosporum</i> , <i>F. oxysporum</i> , <i>F. solani</i> , <i>F. proliferatum</i>	<b>Acido fusarico</b>

### 1.3 Aflatossine:

Le aflatossine sono un gruppo di micotossine prodotte da alcuni miceti come *Aspergillus flavus* e *A. parasiticus*. Le muffe appartenenti all'*Aspergillus flavus* e *A. parasiticus* sono estremamente diffuse nell'ambiente ed hanno la capacità di insediarsi, grazie alle microfessure operate da insetti e parassiti nei tessuti vegetali, e nel proseguo del loro accrescimento, di produrre micotossine e numerose spore fungine che per diffusione anemofila raggiungono altre piante (Causin R., 2006). Sostanze nutritive specifiche, come i minerali, in modo particolare lo zinco, le vitamine, gli acidi grassi, gli aminoacidi e le fonti di energia come l'amido, sono richieste per la formazione di aflatossine. L'alta concentrazione di carboidrati come nel caso del grano e del riso ed in misura minore per i semi oleosi come cotone, arachidi ecc., favoriscono la sintesi dell'aflatossine (Akande K.E., 2006). Le aflatossine che vengono riscontrate negli alimenti di origine vegetale sono quattro: B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>; le B sono prodotte sia da *A. flavus* che da *A. parasiticus*, mentre le G sono prodotte solo dal secondo. La temperatura di produzione ottimale si aggira sui 25-28° C e non hanno bisogno di umidità

elevate, infatti resistono bene in climi secchi; questo spiega perché le aflatossine vengano più frequentemente rilevate in derrate provenienti da zone a clima caldo (arachidi, cotone, pistacchi, noci brasiliane fichi secchi, alcune spezie) o su colture estive, come il mais. Chimicamente sono dei derivati della cumarina e vengono denominate con le sigle B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> (rispettivamente metossi-difuro-cumarone e metossidifuro-cumaro-lattone), G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub> (loro diidroderivati). Prendono il loro nome da un'intensa fluorescenza blu (B<sub>1</sub> e B<sub>2</sub>) o verde (G<sub>1</sub> e G<sub>2</sub>) se sottoposte a luce ultravioletta. Questa colorazione, è il frutto di una reazione chimica da parte dell'*Aspergillus*, dove l'acido coico, per azione di una perossidasi, si converte in una sostanza fluorescente, visibile tramite una luce UV di 365 nm (Lynch G.P. et al, 1970).

Le aflatossine causano una serie di sintomi che variano a seconda della specie animale ed i giovani animali sono quelli più suscettibili alla loro azione (Lynch G.P. et al, 1970). Queste si legano alle basi di guanina nel DNA e bloccano il processo di trascrizione e possono anche indurre delle mutazioni irreversibili. Tuttavia, in genere in tutti gli animali, le aflatossine determinano danni al fegato, una diminuzione delle prestazioni riproduttive, diminuzione della produzione latte, morte embrionale, effetti teratogeni, tumori e soppressione del sistema immunitario anche quando le dosi tossine consumate sono basse (Akande K.E. e El Batan, 2006). Inoltre un'aflatossicosi può portare anche ad una riduzione dell'ingestione, ad un lento accrescimento e in certi casi ridurre l'efficienza alimentare; nei bovini determina una riduzione dell'attività ruminale (Lynch G.P. et al, 1970).

#### **1.4 Aflatossina B<sub>1</sub>**

Del gruppo delle aflatossine, la B<sub>1</sub> è quella più prodotta, nonché la più tossica e può manifestarsi in modo acuto o cronico. Per quanto riguarda l'escrezione dell'AFB<sub>1</sub>, una frazione della tossina viene eliminata attraverso il tratto intestinale, ma le principali vie di escrezione sono rappresentate da quella biliare (in forma di AFB<sub>1</sub>-glutazione) e urinaria (come aflatossina M<sub>1</sub> e aflatossina B<sub>1</sub>-N<sub>7</sub>-guanina). Anche il latte è una via di escrezione dell'AFB<sub>1</sub> (come AFM<sub>1</sub>), costituendo in tal modo a causa della rilevante tossicità di questo metabolita una potenziale fonte di assunzione per i giovani nati, durante la fase della lattazione (Cathey C.G. et al., 1993). I segni di un'intossicazione acuta si manifestano con grave apatia, perdita dell'appetito, febbre più o meno elevate e morte dell'animale in tempi varianti a seconda della sensibilità specifica. Generalmente, il fegato appare pallido, aumentato di volume e con necrosi del parenchima. I danni legati all'intossicazione cronica sono di tutt'altro ordine: i segni più visibili consistono in inappetenza, rallentamento della crescita accompagnato da perdita di peso ma è il fegato che risente maggiormente dell'attività tossica: esso risulta

congestionato e presenta delle zone emorragiche e necrotiche e, quando l' intossicazione è prolungata, si manifestano processi cancerogeni. I reni sono congestionati e occasionalmente si può osservare enterite emorragica. Inoltre compaiono stato depressivo e disturbi nervosa, quali incoordinazione motoria, perdita di equilibrio e spasmi muscolari.

**Tabella 1.4.Tenori massimi di aflatossine consentiti negli USA e in Europa espressi in ppb.**

Prodotto	USA (ppb)	EU (ppb)
Latte	0,5	0,05
Mais per vacche da latte	20	5
Mais per animali giovani	20	10
Mais per bovini da carne	100	20

L' aflatossina M può dirsi tossica al 100% parimenti all' aflatossina B<sub>1</sub> ma ha cancerogenicità in vivo inferiore (2-10%). Inoltre circa lo 0,3-6,2% delle aflatossine B<sub>1</sub> contenute nelle razioni per animali è trasformata in M<sub>1</sub> nel latte (Fink-Gremmels J., 2007). La contaminazione del latte può essere correlabile al tipo di alimento somministrato nella razione, nel senso che la concentrazione finale di M<sub>1</sub> è maggiore quando aumenta la sostanza secca ingerita e le quantità di insilato di mais e di cotone presenti, viceversa risulta più bassa in razioni con più soia e fieno.

### **1.5 Zearalenone:**

Lo zearalenone (ZEN) è una micotossina ad azione estrogenica che a sua volta può essere degradata in due metaboliti:  $\alpha$ -zearalenolo e  $\beta$ -zearalenolo ed è un contaminante generalmente presente nel mais, avena, orzo, sorgo e fieno; la sua produzione è favorita da condizioni di alta umidità e basse temperature (Lynch G.P. et al, 1970). Inoltre, si tratta di una molecola insolubile in acqua e stabile al calore e persiste sia negli alimenti impiegati in zootecnia sia nei prodotti consumati dall'uomo (Akande K.E, 2006). *Fusarium graminearum* e *Fusarium culmorum* sono la principale fonte di zearalenone e sono largamente diffuse nel mondo. Lo zearalenone simula l'effetto prodotto dagli estrogeni, ormoni femminili, e quando è presente in piccole quantità, determina un aumento della taglia dell'animale e uno sviluppo precoce delle ghiandole mammarie e degli organi dell'apparato riproduttore. Ad alte concentrazioni, lo

ZEN interferisce con il concepimento, l'ovulazione, l'impianto e lo sviluppo fetale; inoltre, nelle bovine da latte, grandi quantità di questa tossina possono indurre gli aborti. Altre risposte dell'animale allo zearalenone possono includere la riduzione dell'ingestione degli alimenti, il calo della produzione di latte, scarse prestazioni riproduttive ed ipertrofia della mammella (Yiannikouris A. e Jouany, J.P., 2002).

### **1.6 Carry-over:**

Generalmente quando si parla di carry-over delle micotossine si intende il rapporto fra la quantità di micotossina escreta e quella ingerita dall'animale, esprimendo entrambi in  $\mu\text{g}/\text{die}$ . Se gli alimenti ingeriti risultano contaminate da aflatossina  $B_1$ , la stessa viene trasformata dal fegato in metaboliti polari generalmente meno tossici, eliminate attraverso le urine, la bile ed il latte. Il carry-over dell'aflatossina  $M_1$  nel latte raggiunge valori variabili dall'1 al 3%. Esiste tuttavia un'elevata variabilità individuale e di razze (Cathey C.G. et al., 1993). L'elevata variabilità dipende da:

- *entità del metabolismo;*
- *specie animale;*
- *razza;*
- *fattori individuali*, quali ad esempio le infezioni mammarie che aumentano il carry-over in quanto gli animali affetti da mastite presentano un'aumentata permeabilità degli alveoli che consentono un maggior passaggio di  $AFM_1$  nel latte;
- *livello produttivo*; da diversi esperimenti, infatti, è emerso che a parità di quantità di micotossina ingerita, il tasso di trasferimento complessivo delle  $B_1$  negli alimenti a  $M_1$  nel latte è più elevato a inizio lattazione rispetto ad una fase avanzata ed è linearmente correlata con il livello produttivo.

Oltre all'aflatossina  $M_1$ , è presente una vasta gamma di micotossine introdotte tramite la dieta dell'animale che possono essere escrete nel latte. Il tasso di escrezione dipende dall'integrità della barriera tra il sangue e il latte, la cui funzionalità può essere compromessa nei casi di specifiche patologie o infezioni locali (mastiti). La cosiddetta "blood milk barrier" comprende diverse strutture anatomiche e processi di trasporto attivo. Questa è formata dall'epitelio dei capillari sanguigni che circondano e riforniscono le cellule secretorie della ghiandola mammaria. Sia le sostanze polari che le molecole di grandi dimensioni non possono passare attraverso tale barriera per semplice trasporto di diffusione passivo. I fattori che contribuiscono all'escrezione delle tossine nel latte sono il

peso e la liposolubilità di un composto, come pure la sua capacità di legarsi alle proteine plasmatiche. Il trasporto è influenzato anche dalla differenza di pH tra il plasma sanguigno e il latte. Negli animali sani, il pH del latte è più basso di quello del sangue, mentre in animali affetti da qualche patologia o con mastiti, il pH del latte è lo stesso di quello del plasma sanguigno se non anche più elevato. Recentemente, hanno acquisito notevole importanza anche alcuni trasportatori transmembrana i quali facilitano l'escrezione attiva di composti sia endogeni che esogeni dal torrente circolatorio nel latte. Nella ghiandola mammaria, BCRC è stato descritto come il principale trasportatore coinvolto nel processo di escrezione; ad esempio l'ocratossina A, l'aflatossina M<sub>1</sub> e l'aflatossicolo sono dei substrati del BCRP che determina la loro presenza nel latte (Fink-Gremmels J., 2007).

In generale, la maggior parte delle micotossine che si trova negli insilati o in altri alimenti zootecnici possono creare severi casi di intossicazione mentre nella realtà solo una piccola quantità di metaboliti viene escreta nel latte e sembra raggiungere concentrazioni pericolose per la salute pubblica (Nebbia C., 2002); in ogni caso i livelli di micotossine nel latte vengono tenuti costantemente sotto controllo in modo da evitare possibili effetti nocivi nei riguardi sia della salute dell'uomo (ed in particolare di quella dei bambini che consumano maggiori quantità di latte) sia per quanto riguarda i parametri qualitativi della stessa produzione latte (al fine di utilizzare il latte per prodotti di fermentazione come lo yoghurt).

### **1.7 Differenze tra ruminanti e monogastrici:**

Per quanto riguarda la cinetica, la presenza del rumine rappresenta un fattore importante nel condizionare una minore sensibilità dei ruminanti in rapporto ai monogastrici nei confronti di numerose micotossine (Fink-Gremmels J., 2007). Grazie all'azione dei microrganismi della flora di questo prestomaco la maggior parte di questi metaboliti viene convertita in composti meno tossici o biologicamente inattivi. Reazioni di idrolisi e/o di riduzione determinano infatti la formazione di derivati meno tossici a carico di ocratossina A (OTA), desossinivalenolo (DON), tossina T2 e diacetossiscirpenolo (DAS), mentre aflatossina B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) e fumonisine non sembrano subire importanti fenomeni degradativi, soprattutto dal punto di vista quantitativo. Infatti, la forma B<sub>1</sub> pare che abbia un' elevata resistenza alle condizioni dell' ambiente ruminale e alla degradazione da parte della popolazione batterica presente (inferiore al 10%), oltre che alla capacità di ridurre crescita ed efficienza. Nelle varie



fasi del processo digestivo le aflatossine assorbite vengono trasportate al fegato dove avviene la loro metabolizzazione, che da origine a diversi idrossi-derivati, destinati ad effettuare un lungo percorso nel torrente circolatorio, prima dell'allontanamento dall'organismo per mezzo di escrezioni e secrezioni come urina, bile e latte. Inoltre la quantità di tossina ingerita è correlabile alla presenza di residui in sede epatica. Una piccola parte di tutte le aflatossine ed in particolare della M<sub>1</sub> e M<sub>2</sub> si può depositare nei tessuti muscolari, mentre gran parte di essa è escreta dalla sede epatica e renale per mezzo del latte. L'aflatossina B<sub>1</sub> una volta assorbita dalle mucose del sistema gastro-intestinale è rilevabile nel plasma dopo 15 minuti dall'ingestione e nel latte nella mungitura successiva. La condizione di *steadystate* (o *plateau*), raggiunge il massimo valore stabile dopo 6 giorni di interrotta assunzione di livelli costanti d'aflatossina B<sub>1</sub>. Per contro, lo zearalenone viene ridotto in parte ad  $\alpha$ - ed in parte a  $\beta$ -zearalenolo, caratterizzati da attività estrogenica rispettivamente molto maggiore ed inferiore rispetto alla molecola parente. Occorre tuttavia rilevare che l'azione detossificante del ruminante è influenzata da fattori quali tempo di persistenza e motilità ruminali e, soprattutto, quantità di micotossina in gioco. Dopo il passaggio del filtro ruminale, alcune micotossine a reazione acida (OTA, acido ciclopiazonico) possono venire già assorbite in ambito abomasale, mentre di norma l'assorbimento avviene in tratti diversi dell'intestino tenue in percentuale variabile a seconda della tossina e molto bassa per la fumonisina. In circolo le micotossine si legano soprattutto alle albumine e l'OTA può formare addotti stabili con la lisina che ne prolungano sensibilmente l'emivita plasmatica. In ambito epatico le micotossine subiscono reazioni di biotrasformazione diverse, catalizzate essenzialmente dal citocromo P450 e da riduttasi, esterasi ed enzimi coniugativi (glucuroniltransferasi, glutatione S-transferasi) alcune delle quali (soprattutto quelle mediate dal citocromo P450) a carattere bioattivante, altre invece a carattere detossificante (Nebbia C., 2002).

Anche se i ruminanti sono meno sensibili rispetto ai monogastrici all'azione delle micotossine grazie ai meccanismi di detossificazione sopra elencati, questo non vale per tutti i metaboliti che contaminano gli alimenti zootecnici (Fink-Gremmels J., 2007). Inoltre le bovine da latte, ad opera del miglioramento genetico e della selezione, sono spinte a produrre quantità sempre crescenti di latte e quindi per soddisfare gli specifici fabbisogni di produzione hanno bisogno di introdurre con l'alimentazione determinati quantitativi di concentrati ad alta energia (che possono rappresentare anche il 50% di una razione giornaliera). Questo comporta, come diretta conseguenza, che i ruminanti possono essere esposti all'azione di più micotossine (sia a quelle presenti nei concentrati sia a quelle all'interno dei foraggi).

## **2. OBIETTIVO DELLA TESI:**

Lo scopo della tesi è stato quello di verificare e di descrivere i principali danni causati dalla ripetuta somministrazione di alimenti contaminati dalle micotossine sulle vacche in lattazione in un'azienda della provincia di Padova considerando un periodo di due anni consecutivi (2012-2013). Per quanto riguarda l'alimentazione delle bovine, sono stati oggetto di analisi sia l'unifeed che l'insilato di mais; a partire da questi dati si è potuto osservare diversi cambiamenti sia nell'ambito dei parametri produttivi aziendali (in particolar modo la fertilità degli animali, produzione di latte, ecc.) e dei trattamenti veterinari, sia in quello relativo al comportamento animale. Questo è stato importante non solo per rendersi effettivamente conto dell'importanza di un'alimentazione di alta qualità per le bovine da latte sia in termini di produzione che di benessere animale ma anche per quantificare i molteplici effetti nocivi prodotti dalle micotossine, visibili anche parecchio tempo dopo l'eliminazione degli alimenti contaminati. Fine ultimo di questa esperienza aziendale è stato anche il tentativo di delineare una serie di strategie atte a prevenire e/o gestire tali situazioni di contaminazione.



### 3. MATERIALI E METODI :

Lo studio è stato realizzato nel corso del periodo di tirocinio (300 ore) svolto presso l'Azienda Agricola di "Piccolo Riccardo e Francesco" a Piazzola sul Brenta.

#### 3.1 Descrizione dell'azienda

L'Azienda Agricola di "Piccolo Riccardo e Francesco" si trova a Piazzola sul Brenta e ospita al suo interno bovine specializzate nella produzione di latte che viene successivamente destinato alla caseificazione. La mandria aziendale è composta da 100 vacche, 30 manze e 60 vitelle e manzette sotto l'anno di età. L'allevamento ha una dotazione di SAU pari a 72 ha ( 27 in proprietà e 25 in affitto, 20 in concessione per lo scarico del liquame) 20 ha che vengono destinati alla produzione di mais, 7 ha a prato stabile, 5 ha a medica e 20 ha di loiessa.

Le strutture zootecniche destinate ad accogliere gli animali allevati sono suddivise nei seguenti comparti:

1) Una stalla per le vacche in lattazione (circa un centinaio di capi) a stabulazione libera con pavimentazione in cemento dotata di un raschiatore come sistema per rimuovere le deiezioni; al suo interno è presente la zona di riposo provvista di cuccette disposte su tre file ( una fila singola e le altre due nella modalità "testa a testa"); oltre ai materassini, viene anche aggiunto



**Figura 3.1** Interno della stalla delle bovine in lattazione. Particolare della mangiatoia.

uno strato di segatura sulla superficie di riposo dell'animale. Vi sono inoltre due corsie di movimentazione per le bovine, di cui una è la corsia di alimentazione, collegate tra loro da tre passaggi lungo i quali sono disposti gli abbeveratoi. Le rastrelliere sono autocatturanti e sopra di queste sono collocati i nebulizzatori utilizzati come impianti di raffrescamento, insieme ai ventilatori verticali posti sui due lati lunghi dell'azienda. Dall'altro lato della corsia di foraggiamento sono inoltre disposte le gabbiette individuali per i vitelli (solo femmine) con lettiera di paglia, dotate di secchi per l'acqua/latte e mangiatoie con fieno e mangime prestarter, e quattro piccoli box multipli ospitanti da due a cinque vitelli di età superiore alle otto settimane con lettiera di segatura o trucioli di legno. Inoltre, all'interno della stalla, è anche compresa la sala mungitura: questa è a spina di pesce, con sei posti di mungitura per lato (12 in totale); poi il latte appena munto viene convogliato nella cisterna di raccolta. Accanto a quest'ultima è presente l'ufficio per la registrazione dei dati aziendali e la raccolta dei farmaci.

2) Una stalla a stabulazione libera dedicata alla rimonta (che è solo interna), nella quale si trovano le manzette, le manze e le vacche in asciutta, per un totale di circa 80 capi; il sistema di pavimentazione utilizzato per le manzette è la lettiera permanente che viene rinnovata ogni due/tre giorni, in particolar modo durante il periodo estivo. Per le manze e le vacche in asciutta viene invece impiegata la pavimentazione in grigliato e sono presenti cuccette disposte su fila singola e dotate di materassini come area di riposo per gli animali. I box delle manzette e i rispettivi delle manze e vacche si affacciano su entrambi i lati della corsia di foraggiamento e sono dotati di rastrelliere autocatturanti. Nell'edificio è anche presente un box parto, contiguo a quello delle manze, con abbondante lettiera in paglia nel quale vengono trasferite le bovine gravide una o due settimane prima del parto. Di fianco a questo, si trovano due piccoli box multipli, con lettiera in paglia, che servono per la sistemazione dei vitelli (solo maschi) destinati poi alla vendita.



**Figura 3.2. Dettaglio del box parto**

3) Grande edificio per la conservazione del foraggio, immagazzinato sotto forma di rotoballe

(destinato all'alimentazione degli animali), per il ricovero dei vari macchinari agricoli o con funzione di deposito; infine, nelle sue vicinanze, si trova anche il silos orizzontale per la conservazione dell'insilato di mais e vari silos verticali che fungono da stoccaggio di materie prime (concentrati) impiegate nella preparazione dell'unifeed col carro miscelatore.

4) Il caseificio aziendale nel quale avviene la lavorazione del latte appena munto per la sua trasformazione in diversi tipi di formaggi destinati alla vendita diretta.

### **3.2 Descrizione animali**

La maggior parte degli animali presenti in allevamento appartiene alla razza Frisona (quasi tutte sono pezzate nere, ad eccezione di qualche pezzata rossa), quindi tipi genetici con capacità di produrre elevate quantità di latte, di grande mole ma con scheletro molto fine e dalle forme angolose. Inoltre, ci sono anche pochi esemplari appartenenti alle



**Figura 3.3. Vitello di razza Bruna.**

seguenti razze:

- Bruna;
- Piemontese;
- Pezzata Rossa;
- Blu Belga;
- Pezzata Rossa Svedese;
- Pezzata Nera Svedese;

Infine, oltre alle razze in purezza, sono anche presenti degli incroci quali:

- Frisona x Piemontese;
- Frisona x Pezzata Rossa Svedese;
- Frisona x Pezzata Nera Svedese;
- Frisona x Blu Belga;
- Frisona x Bruna;

### 3.3 Programma di alimentazione delle bovine in lattazione

L'azienda per quanto riguarda l'alimentazione delle bovine in lattazione adotta il metodo dell'unifeed ovvero la preparazione e distribuzione di una dieta mista ottenuta miscelando tutti i diversi costituenti alimentari.

La dieta nel periodo che ha preceduto la comparsa delle micotossine, risultava basata sul silomais aziendale (20 kg), di farina di mais aziendale (5 kg) e fieno di prato stabile o loietto (2-3 kg) e fieno di medica (2 -3 kg) sempre di origine aziendale e veniva integrata con un circa 3kg del seguente un mangime proteico integrato:

PREMIUM GOLD
FARINA DI SOIA DECORTICATA
SEMI DI SOIA TOSTATI
PANELLO DI SEMI DI GIRASOLE
CARBONATO DI CALCIO
FOSFATO MONOCALCICO
BICARBONATO DI SODIO
CLORURO DI SODIO
OSSIDO DI MAGNESIO

SUPER-SAL VL/TAMP
FOSFATO BICALCICO BIIDRATO MINERALE
SODIO BICARBONATO
CARBONATO DI CALCIO DA ROCCE CALCICHE MACINATE (Ca 38%)
SODIO CLORURO
MAGNESIO OSSIDO
SODIO PROPIONATO
LIEVITO DI BIRRA
FRUMENTO TENERO
ZOLFO FIORE

E con mini quantità di integratori commerciali che apportavano minerali, lievito e additivi:

VITARUMEN
LIEVITO DI BIRRA
TRITELLO DI FRUMENTO
ESTRATTI SECCHI DELLA FERMENTAZIONE DI ASPERGILLUS ORYZAE
FRUMENTO TENERO

FEET-SAN PLUS
PARETI CELLULARI ESTRATTE DA SACCHAROMYCES CEREVISIAE
LIEVITO DI BIRRA
ZOLFO FIORE
CARRUBINA
ACIDI GRASSI E I LORO SALI
FRUMENTO TENERO
QUILLAJA SAPONARIA
ESTRATTO PURIFICATO DI CARDUUS MARIANUS

AGECON
FARINACCIO DI FRUMENTO
MELASSO DI CANNA DA ZUCCHERO
ADDITIVI
CLINOPTIOLITE 80% DI ORIGINE SEDIMENTARIA
KIELGUR (TERRA DI DIATOMEE PURIFICATA)
ACIDO FORMICO
ACIDO PROPIONICO
ACIDO FUMARICO
ACIDO MALICO

L'unifeed viene preparato e scaricato in mangiatoia due volte al giorno, più precisamente, una la mattina e una la sera in concomitanza con l'orario della mungitura in modo che quando le bovine appena munte escono dalla sala trovano gli alimenti sempre a disposizione; in questo modo si evita agli animali di coricarsi immediatamente dopo la mungitura e quindi la soluzione impiegata nel post-dipping può fare effetto e occludere l'orifizio del capezzolo e quindi proteggere la mammella da un eventuale ingresso di patogeni.

### **3.4 Disegno sperimentale dello studio**

Per analizzare gli effetti negativi causati dalla contaminazione con le micotossine, sono stati presi come riferimento i dati produttivi aziendali relativi a 2 consecutivi anni di produzione a partire da Gennaio 2012 fino a Dicembre del 2013. Il problema della contaminazione si è manifestato a partire dal mese di Ottobre 2012 e le bovine hanno continuato ad assumere alimenti con una elevata concentrazione di micotossine sino al successivo Settembre 2013. Allo scopo di mettere in evidenza gli effetti della contaminazione sulla produzione e sulla salute e benessere delle bovine in lattazione è stato realizzato un confronto tra i dati rilevati nell'allevamento per questi indicatori nel periodo Gennaio – Ottobre 2012 che ha preceduto la presenza del problema e il periodo caratterizzato dalla presenza delle micotossine.



### **3.5 Protocollo dei rilievi**

#### **Alimentazione delle bovine.**

Il monitoraggio del programma di alimentazione delle bovine ha previsto un controllo mensile di alimenti e diete per verificare da una parte la presenza delle micotossine e dall'altra le modifiche della composizione alimentare realizzate dall'allevatore per cercare di limitare la presenza di materie prime contaminate. Campioni di alimenti (mais e silomais) e della dieta unifed sono stati periodicamente inviati al laboratorio di analisi della ditta Progeo che forniva all'allevamento i mangimi concentrati destinati all'alimentazione degli animali per permettere un monitoraggio della contaminazione da micotossine.

#### **Dati produttivi.**

Per analizzare gli effetti negativi causati dalle micotossine, sono stati presi come riferimento i dati produttivi aziendali e in particolare quelli relativi alla consegna del latte (latte di massa) che sono stati raccolti per ogni mese nel corso dell'intero periodo della ricerca. Il latte aziendale viene destinato in parte alla caseificazione e dal caseificio che raccoglieva il prodotto sono stati registrati i valori mensili relativi alla composizione e all'attitudine di coagulazione del prodotto:

- % proteina;
- % di grasso;
- numero di cellule somatiche;
- carica batterica;
- crioscopia;
- *r* (tempo di coagulazione);
- *A30* (resistenza del coagulo);

#### **Cause di riforma delle bovine e interventi veterinari.**

Le motivazioni che portavano all'eliminazione delle bovine in lattazione all'interno dell'azienda dipendevano ovviamente da vari fattori, tuttavia, per favorire una loro analisi statistica sono state registrate le motivazioni più frequenti secondo la seguente classificazione:

- mortalità;
- dislocazioni abomasali
- zoppie;
- mastite;
- ipofertilità.

Parallelamente sono stati anche registrati gli interventi terapeutici realizzati nei confronti degli episodi di mastite e di zoppia rilevati nel corso dei due anni di sperimentazione.

### **3.6 Trattamento dei dati ed elaborazione statistica:**

I dati analitici rilevati sui campioni di alimenti e diete non sono stati elaborati in quanto presenti in un numero troppo limitato per consentire una loro affidabile analisi statistica. I dati mensili relativi alla produzione e alla qualità del latte non presentavano una distribuzione normale al test di Shapiro-Wilk e pertanto sono stati elaborati con il test non parametrico di **Kruskall-Wallis** per testare la significatività di eventuali effetti significativi dovuti alla presenza delle micotossine. Le frequenze rilevate per le diverse cause di eliminazione delle bovine e il numero di interventi terapeutici nei due periodi della ricerca sono stati elaborati con un **test z** al fine di verificare l'effetto negativo della presenza delle micotossine. Tutte le elaborazioni sono state realizzate con il pacchetto statistico **SAS/STAT (1990)** e hanno considerato una soglia minima di significatività statistica pari a  $P < 0.05$ .



## 4. RISULTATI E DISCUSSIONE

### Alimentazione delle bovine.

Il problema delle micotossine ha fatto la sua comparsa in allevamento a partire da Ottobre 2012 e gli alimenti contaminati, specialmente da aflatossina B<sub>1</sub>, sono stati: l'insilato di mais e le farine sempre dello stesso cereale prodotte in azienda a causa delle avverse condizioni ambientali che avevano caratterizzato la campagna maidicola del 2012.

L'insilato di mais, come riportato nelle analisi effettuate dalla ditta Progeo, ha subito diversi cambiamenti nella sua composizione nel corso dei due anni ed in particolare durante il periodo relativo alla contaminazione. Si ricorda che in generale un buon insilato deve avere le seguenti caratteristiche: un contenuto di ss > 25%, un ph < 4, un contenuto di azoto ammoniacale < 5-10% dell'azoto totale libero, non deve contenere acido butirrico e deve essere esente da micotossine. Nel caso dell'azienda zootecnica in cui è stata svolta la ricerca, i dati analitici dell'insilato di mais, somministrato alle bovine in lattazione da Gennaio fino ad Ottobre 2012 e prodotto nella campagna agricola del 2011, rispecchiavano i valori sopraccitati e la qualità del prodotto era buona (Tabella 4.1).

**Tabella 4.1. Analisi chimica dei due insilati di mais ceroso utilizzati nel 2012 e nel 2013.**

	Insilato 2011	Insilato 2012
Sostanza secca %	39.5	23.7
Proteina grezza % ss	7.6	7.9
Lipidi greggi % ss	2.9	2.7
Ceneri % ss	3.5	4.1
Amido % ss	37.6	29.2
NDF	40.2	45.8
ADF	22.3	26.7
NFC	48.5	39.4
Aflatossine B <sub>1</sub> % ss	n.r.	0.6

A partire dal mese di Ottobre 2012, agli animali in lattazione è stato distribuito il nuovo insilato raccolto nel 2012. Questo foraggio, a seguito delle avverse condizioni climatiche che hanno caratterizzato in particolar modo l'estate di quell'anno, presentava differenti parametri nutrizionali (Tabella 4.1) e in particolare un maggior contenuto di umidità e un più ridotto

contenuto di amido a favore della frazione fibrosa. A ciò, purtroppo si associava anche una certa quantità di micotossine (soprattutto aflatossina B<sub>1</sub>) il cui valore medio analitico era pari a 0,6% ss. Come riportato in diversi articoli scientifici, nel 2012 i danni alla produzione agricola direttamente collegati alla penuria d' acqua si sono sommati ai danni indiretti causati dagli stress biologici ancora collegati alla siccità (durante l' estate 2012 si sono registrate temperature ben superiori alla norma) e alla presenza delle aflatossine nel mais e nei cereali. In Italia il problema delle aflatossine ha ulteriormente aggravato la campagna maidicola di quell' anno. Nel caso dell' azienda oggetto di studio, per limitare i potenziali effetti nocivi di questi agenti tossici, si è deciso di intervenire sulla formulazione dell'unifeed. Fino al momento dell'inserimento degli alimenti contaminati l'azienda somministrava un unifeed con le seguenti materie prime: silomais (20kg tq), farine di mais (5kg), 1.5kg di erba medica, 1.5kg di fieno di prato stabile; in aggiunta veniva somministrato mangime complementare per la vacche da latte (Premium gold e C.T Skretch). Poichè la contaminazione interessava non solo l'insilato ma anche la granella del cereale, da Ottobre 2012 sino a Dicembre 2013, è stata fatta la scelta di dimezzare il contenuto di silomais e di aggiungere per un altro 50% l'insilato di sorgo zuccherino in modo da contenere i possibili danni da micotossicosi; parallelamente sono stati anche sostituiti i mangimi complementari per le vacche in lattazione.

Dal punto di vista chimico gli effetti di questi ripetuti interventi per correggere la formulazione della razione nell'obiettivo di abbattere la presenza delle micotossine vengono chiaramente illustrati nella Tabella 4.2.

**Tabella 4.2. Analisi chimica della razione utilizzata nel 2012 e media dei campioni delle diverse miscelato somministrate alle bovine in lattazione nel 2013.**

	Unifeed 2012	Unifeed 2013	
		Media	DS
Sostanza secca %	57.3	56.2	3.3
Proteina grezza % ss	16.6	15.1	1.2
Lipidi greggi % ss	4.7	4.3	0.1
Ceneri % ss	6.9	7.6	0.9
Amido % ss	24.1	20.9	2.3
NDF	38.4	39.7	1.2
ADF	23.4	25.4	1.1

In generale, dal punto di vista chimico i diversi interventi realizzati sulla composizione alimentare dell'unifeed hanno ridotto leggermente il contenuto di proteina e in modo più rilevante il tenore di amido a favore della componente fibrosa.

### Dati produttivi.

Per quanto riguarda la produzione di latte che veniva destinato alla caseificazione, i dati quantitativi e i valori analitici registrati prima (Ante) e durante il periodo di contaminazione (Mico) vengono riassunti in Tabella 4.3 insieme ai risultati della relativa analisi statistica.

**Tabella 4.3. Dati relativi alla produzione, alla composizione e all'attitudine casearia del latte prodotto nel corso dei 2 anni di studio.**

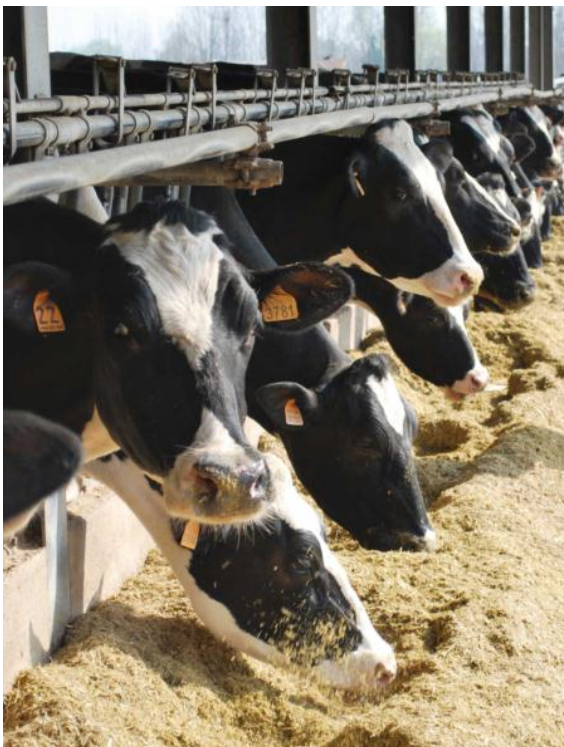
DATI PRODUTTIVI	MEDIANA ANTE	MEDIANA MICO	Test Kruskal-wallis	P
LATTE CONSEGNA TO (media mensile, kg)	2264.1	2218	0.34	0.56
PROTEINA%	3.38	3.43	1.31	0.25
GRASSO%	3.755	3.775	0.46	0.50
N <sup>o</sup> CELLULE SOMATICHE (cellule/ml)	181250	170750	0.34	0.56
CARICA BATTERICA (n.batteri/ml)	17250	17750	0.15	0.70
CRIOSCOPIA (Temp.C)	0.524	0.5285	3.48	0.06
TEMPO DI COAGULAZIONE (r, min)	20.05	21.365	2.14	0.14
RESISTENZA DEL COAGULO, (A30,min)	22.36	22.15	0.17	0.68

Come si può notare dal test nessuno dei dati analitici è risultato significativo perché P è sempre maggiore di 0,05 e quindi la presenza delle micotossine negli alimenti zootecnici non

ha causato danni evidenti alla produzione. Va comunque rilevato che quest'ultima è risulta sempre piuttosto bassa e pari a circa 25 kg/capo/d considerando il potenziale genetico delle bovine presenti in allevamento (la maggior parte delle quali di razza Frisona).

Quindi si è osservato che, nonostante siano stati dati agli animali alimenti contenenti le micotossine per un periodo prolungato (da Ottobre 2012 a Settembre 2013 tramite l'insilato di mais e le farine di mais), queste non hanno alterato i kg di latte prodotti dalle bovine allevate nel corso dei mesi. Infatti, anche se in qualche periodo dell'anno quale ad esempio dopo la stagione estiva la produzione di latte è leggermente calata, non è avvenuto, come atteso, un drastico calo produttivo dovuto alle tossine presenti negli alimenti zootecnici. Questo può dipendere dal fatto che i ruminanti (secondo [Fink-Grammels J., 2007](#)) possiedono i prestomaci ed in particolare il rumine che riesce a convertire una buona parte delle micotossine introdotte con la dieta in metaboliti con un'azione tossica meno potente o biologicamente inattivi anche se questo non vale per tutti i tipi di micotossine presenti negli alimenti zootecnici. Le aflatossine sono solo parzialmente degradate dalla flora ruminale ed il tipico metabolita secondario prodotto dal rumine è l'aflatossicolo; l'esposizione alle aflatossine risulta quindi in una disfunzione epatica e in una diminuzione dell'ingestione giornaliera di alimenti il che può forse spiegare il calo della produzione di latte prodotto da bovine esposte alle aflatossine. Inoltre, come sostiene [Diekman M.A. e Green M.L., 1992](#), i ruminanti sembrano essere più resistenti alle aflatossicosi o all'effetto delle tossine in genere rispetto ai monogastrici e solo un'aflatossicosi acuta può portare alla riduzione della produzione lattea. Anche [Zuber M.S et al.,\(1986\)](#) hanno descritto nel libro "[Aflatoxin in Maize: a proceedings of the workshop](#)", che un'aflatossicosi può essere la causa della riduzione della produzione lattea però gli animali possono non presentare evidenti sintomi da tossicosi; questi inoltre, quando presenti, variano da animale ad animale e dipendono dalla durata dell'esposizione della bovina all'azione delle micotossine, al dosaggio nella dieta e dalla combinazione con altri fattori. Evidentemente in tal caso anche se le bovine hanno ingerito alimenti contaminati dalle tossine per un periodo prolungato, queste erano presenti a dei livelli tali da non causare un effettivo calo della produzione di latte. Per quanto riguarda la qualità del latte non ci sono state delle variazioni significative a proposito della % di grasso e proteina; a volte invece, come sostiene [Yiannikouris A., Jouany J.P, 2002](#), alla riduzione dell'ingestione giornaliera si associa, in aggiunta alla riduzione della produzione di latte, un cambiamento della sua composizione. È infatti stato osservato un rapido decremento produttivo e contemporaneamente un aumento del contenuto lipidico del latte a seguito della

somministrazione di 50 fino a 150 mg di AFM<sub>1</sub>. Nel caso dell'allevamento oggetto di studio la % di grasso del latte si è mantenuta piuttosto costante nel corso degli anni, con valori al di sopra del 3.5%. Inoltre, anche gli altri parametri relativi al numero di cellule somatiche, la carica batterica, la crioscopia, tempo di coagulazione e consistenza del coagulo non hanno subito consistenti cambiamenti, ma hanno mantenuto valori pressoché simili nel corso dei due anni. Ne consegue, quindi, che le micotossine non hanno avuto degli effetti negativi sulla produzione qualitativa di latte dal 2012 fino a fine 2013. Per contro, a partire dalle analisi quanti-qualitative effettuate sulla produzione lattea è stata riscontrata più volte durante l'anno 2013 la presenza dell'aflatossina M<sub>1</sub> nel latte. Purtroppo per questo analita non è stato possibile disporre dei valori ottenuti dal laboratorio; esso comunque non raggiungeva concentrazioni elevate e tali da compromettere la commercializzazione del latte aziendale. Come sostiene [Fink-Grammels J., \(2007\)](#), l'elevata presenza dell'aflatossina M<sub>1</sub> nel latte può rappresentare un problema anche per la tutela della salute dell'uomo. Una volta infatti che gli alimenti zootecnici contaminati dalle aflatossine vengono ingeriti dagli animali, una parte delle aflatossine B<sub>1</sub> ingerita viene degradata nel ruminale con la risultante formazione di aflatossicolo; la frazione rimanente viene assorbita attraverso il tratto digerente tramite il processo di diffusione passiva e, una volta arrivata al fegato, subisce un processo di idrossilazione con la formazione di aflatossina M<sub>1</sub>. Quest'ultima si unisce anche all'acido glucuronico e viene escreta con la bile oppure entra nella circolazione sistemica. Le aflatossine M<sub>1</sub> in circolo possono poi essere eliminate attraverso le urine o il latte.



Inizialmente si stimava che la quota totale di aflatossina M<sub>1</sub> presente nel latte prodotto dalle bovine rappresentasse solo l'1-2% dell'aflatossina B<sub>1</sub> ingerita. Il trasferimento dell'aflatossina M<sub>1</sub> nel latte, detto anche carry-over, è però influenzato da diversi fattori sia nutrizionali che fisiologici che includono: i regimi alimentari, il tasso di ingestione giornaliera, lo stato di salute dell'animale, la capacità epatica di biotrasformazione e la produzione di latte. Questo implica che la quota di aflatossine assorbite dall'organismo ed escreta sotto forma di aflatossina M<sub>1</sub> nel latte varia di animale in animale, di giorno in giorno,



tra una mungitura alla successiva. Perciò, in vacche ad alto regime di produzione, il consumo di grandi quantitativi di concentrati necessari per sostenere al meglio i loro crescenti fabbisogni durante la lattazione possono portare il carry-over a valori del 6.2%. Anche le bovine affette da mastite (Magan N., Olsen M., 2004) possono avere un'escrezione più alta di AFM<sub>1</sub> che deriva da un incremento della permeabilità delle membrane delle cellule degli alveoli mammari. L'aflatossina M<sub>1</sub> ha un potere cancerogeno alto quanto l'aflatossina B<sub>1</sub> e proprietà tossiche generalmente comparabili a quest'ultima. Considerando questi aspetti, molti paesi hanno fissato un livello massimo accettabile di AFM<sub>1</sub> nel latte e nei prodotti caseari (Fink-Grammels J., 2007). Seguendo il piano di valutazione del rischio eseguito dal Joint Expert Committee on Food Additives (JECFA) *Codex Alimentarius*, in molti stati, i regolamenti in vari stati, incluso US Food and Drug Administration (USFDA), hanno fissato il livello massimo consentito di AFM<sub>1</sub> nel latte di 0,5g kg<sup>-1</sup>. In contrasto, in Europa come in altre parti in Africa, Asia e America latina, il livello massimo di AFM<sub>1</sub> nel latte è pari a 0,05g di aflatossina M<sub>1</sub> kg<sup>-1</sup> di latte, più basso rispetto al precedente perché relativo al più alto consumo di latte e prodotti caseari da parte di bambini rispetto agli adulti e alla loro maggiore sensibilità e vulnerabilità all'azione tossica delle aflatossine (Cathey C.G. et al, 1993). Oltre all'AFM<sub>1</sub> sono presenti altre due forme: M<sub>2</sub> e M<sub>4</sub> che derivano da una biotrasformazione epatica delle normali aflatossine e anche queste possono essere escrete nel latte seppur in piccolissime quantità; recentemente è stato poi ulteriormente scoperto che l'aflatossina M può derivare anche dall'aflatossina G (Lynch G.P. et al, 1970). Una volta ingerita una singola dose di aflatossina B<sub>1</sub>, la relativa escrezione di AFM<sub>1</sub> nel latte è completa dopo alcune ore e pari al 3% della rispettiva dose di partenza. L'aflatossina M<sub>1</sub> in genere appare nel latte da 12 a 24 ore dopo la somministrazione di alimenti zootecnici contaminati e scompare 3-4 giorni dopo la sospensione della dieta contenente le micotossine. In ogni caso c'è sempre una relazione lineare tra la quota complessiva di aflatossina B<sub>1</sub> ingerita e la rispettiva concentrazione di AFM<sub>1</sub> nel latte.

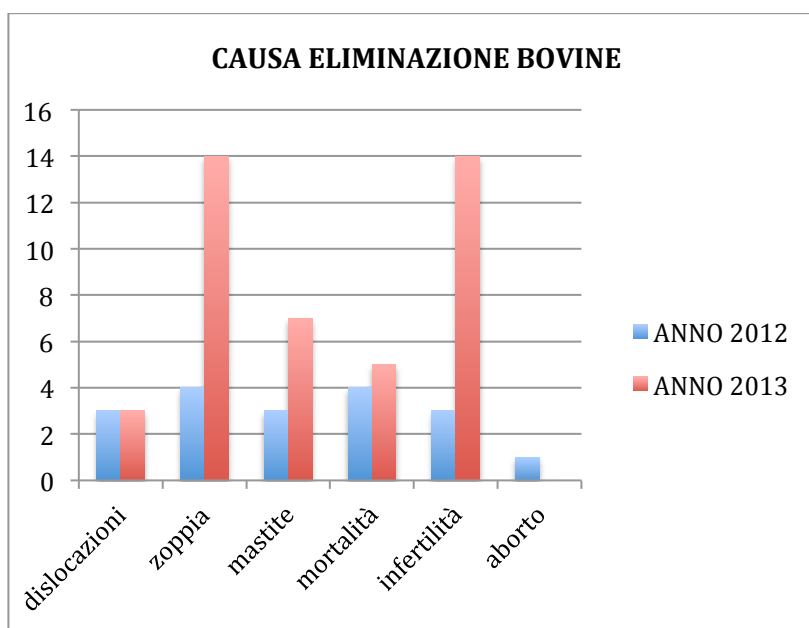
#### Cause di riforma delle bovine e interventi veterinari.

Anche i dati relativi alle cause di eliminazione delle bovine dall'allevamento sono stati analizzati mediante il test z e i relativi risultati sono riassunti nella Tabella 4.4.

**Tabella 4.4. Percentuale di bovine riformate a causa di specifiche problematiche e vacche morte nel corso dei 2 anni dello studio.**

CAUSA DI ELIMINAZIONE BOVINE	PERIODO ANTE CONTAMINAZIONE	DURANTE LA CONTAMINAZIONE	TOTALE	Test z	P (SOGLIA DI PROBABILITÀ DELL'ERRORE)
DISLOCAZIONI ABOMASALI, %	3	3	6		1
ZOPPIA	4	14	18	0,1	0,012
MASTITE	3	7	10	0,04	0,192
MORTALITÀ	4	5	9	0,01	0,733
IPOFERTILITÀ	3	14	17	0,11	0,004
ABORTO	1	0	1		

**Grafico 4.4. Causa di riforma delle bovine dall' allevamento.**



Come si può osservare dalla tabella i dati relativi alla zoppia e all'ipofertilità sono risultati statisticamente significativi  $P < 0,05$  e nello specifico, la classe relativa all'ipofertilità viene considerata molto significativa perché il livello soglia di probabilità  $P$  è  $< 0,01$  (e quindi la probabilità è pari all'1%). Quindi le micotossine hanno avuto degli effetti negativi sugli

animali e hanno contribuito all'eliminazione degli stessi dall'allevamento a causa delle zoppie e dell'ipofertilità.

Infatti come si può osservare dal Grafico 4.4, le micotossine hanno determinato un'impennata dei numeri riferiti alle zoppie e all'infertilità: su cento capi in lattazione gli animali eliminati per un problema di zoppie sono passati dal 4 al 14%, mentre quelli eliminati per ipofertilità sono aumentati dal 3 al 14%.

Gli episodi di mortalità all' interno della mandria aziendale sono aumentati ma per questa variabile non è emersa una significatività statistica a seguito del test. La mortalità comunque rappresenta una problematica in aumento negli allevamenti di bovine da latte anche nell' ambito dello scenario internazionale. Le cause della mortalità sono varie, come riportato in un recente articolo americano (Duckworth B., 2014), le vacche morte in azienda negli USA costituiscono una perdita del 3,8% nel 1996 e del 5,8% nel 2007 ed i numeri tuttora sono in aumento (fino ad un 10%); le indagini condotte nel 2007 dal Dipartimento di Agricoltura dimostrano che il 20% delle bovine muore a causa di problemi podali (laminiti o traumi), il 16,5% per mastite, il 15,2% per problemi di parto e un altro 15% per motivi ancora non chiari. La mortalità rappresenta quindi un grave problema che determina gravi perdite economiche e che deve essere affrontato dal punto di vista manageriale.

Per quanto riguarda il nostro caso studio, nonostante non siano state osservate variazioni per quanto riguarda la produzione quanti-qualitativa di latte, la presenza delle micotossine nel corso del 2013 ha determinato un incremento degli animali eliminati per ipofertilità; a causa dell'effetto negativo esercitato dalle tossine, le bovine non riuscivano più a rimanere gravide oppure l'intervallo parto-concepimento era molto alto (perché le bovine non riuscivano ad instaurare una nuova gravidanza se non solo dopo molteplici interventi di fecondazione). Diverse vacche sono state dunque riformate poiché non era più conveniente allevarle per via dei costi di gestione e alimentazione a fronte di una produzione di latte sempre più limitata. Passando dal 2012 al 2013 il valore espresso in % degli animali eliminati dall'allevamento è, come si è visto precedentemente, aumentato di oltre quattro volte. Questo infatti deriva dal fatto che, come sostiene Diekman M.A. e Green M.L. (1992), le micotossine possono influenzare la sfera riproduttiva; tra le tossine che danneggiano la performance degli animali ci sono le aflatossine, il deossinivalenolo (DON), ergot, le ocratossine e lo zearalenone (ZEN). È stato anche trovato nel mais un metabolita secondario del *Fusarium* denominato F-2 che ha un'attività estrogenica: il fieno contenente questa micotossina, se somministrato alle vacche da latte, determina un incremento del rapporto tra il numero di servizi eseguiti per animale e il tasso di concepimento (Lynch G.P. et al, 1970). Tra tutti questi metaboliti

secondari, lo zearalenone è comunque quello che provoca i danni maggiori nell'ambito della riproduzione degli animali da allevamento perché possiede un'importante attività estrogenica. Le altre micotossine danneggiano la riproduzione degli animali per via indiretta cioè attraverso la riduzione del tasso di ingestione giornaliera, rallentando la crescita oppure recando danni ad altri organi vitali del corpo. Gli effetti principali dello ZEN sono quindi problemi riproduttivi e cambiamenti fisici degli organi genitali paragonabili a quelli indotti dall'estradiolo (Yiannikouris A. e Jouany J.P, 2002): edema e ipertrofia degli organi genitali delle femmine prepuberi, diminuzione del tasso di sopravvivenza degli embrioni nelle femmine gestanti, riduzione della quantità di ormone luteinizzante (LH) e progesterone prodotti causando danni alla morfologia del tessuto uterino, diminuzione della produzione



lattea ed infertilità. Anche secondo Akande K.E. (2006), lo zearalenone se presente in dosi eccessive può interferire col tasso di concepimento, ovulazione e impianto dell'embrione, e con lo sviluppo fetale; è consigliabile perciò non avere concentrazioni di ZEN che superino il valore pari a 250 ppb all'interno della dieta che viene somministrata agli animali. In genere i

suini sono gli animali più sensibili alla contaminazione da ZEN mentre gli avicoli e i ruminanti lo sono in misura inferiore. Inoltre una cronica aflatossicosi può compromettere il sistema riproduttivo determinando cicli estrali di lunghezza variabile (troppo lunghi o troppo corti), inducendo aborti e creando una maggiore suscettibilità dell'organismo alle varie malattie e infezioni uterine. In aggiunta le micotossine, in generale, possono essere una tra le principali cause di formazione delle cisti ovariche nelle bovine da latte soprattutto nel primo periodo post-partum (Özsoy S. et al, 2004).

Accanto ai dati relativi alle bovine eliminate sono anche state analizzate le frequenze dei trattamenti terapeutici effettuati sugli animali sono state elaborate mediante il test z per testare l' eventuale effetto negativo delle micotossine (Tabella 4.5).

**Tabella 4.5. Numero dei trattamenti terapeutici eseguiti nel corso dei due anni per contrastare gli effetti delle micotossine sulla salute degli animali.**

TRATTAMENTI VETERINARI PER:	PRE-CONTAMINAZIONE	PERIODO MICO	TOTALE	TEST Z	P (SOGLIA DI PROBABILITÀ DELL'ERRORE)
MASTITE	17	35	52	-0,18	0,003
TOTALE TRATTAMENTI ZOPPIE	25	114	139	-0,64	<0,001

E' interessante notare come nel caso della mastite non si siano rilevate differenze tra i due periodi dello studio considerando le bovine eliminate per questa patologia (Tabella 4.4) mentre dai dati relativi ai trattamenti terapeutici è emersa una evidente impennata ( $P < 0.003$ ) nel periodo della contaminazione (Tabella 4.5). Anche per quanto riguarda le zoppie, il numero di interventi terapeutici è aumentato nel periodo della contaminazione ( $P < 0,01$ ) e quindi si può affermare che le micotossine sono state anche la probabile causa dell' aumento del numero di zoppie e di conseguenza dei rispettivi trattamenti terapeutici eseguiti al fine di curare gli animali.

Si presume che, oltre al calo della fertilità e agli episodi di zoppia e mastiti, le micotossine presenti nei componenti della razione degli animali abbiano avuto anche altri effetti negativi sulla loro salute. Infatti, le bovine, alcuni mesi dopo la somministrazione di alimenti zootecnici contenenti le micotossine, hanno iniziato a presentare diversi sintomi tipici da tossicosi, quali in particolare: ascessi agli arti e in altre parti del corpo con conseguente dolorabilità.

Alcuni effetti delle micotossine



*Rigonfiamenti (ascessi)*





*Lesioni agli arti*



Le micotossine sono, come descrive [Battilani P. et al. \(2006\)](#), dei metaboliti secondari in grado di produrre effetti acuti, cancerogeni, mutageni, teratogeni, estrogeni, immunodepressori, ecc; evidenziano poi diversi tipi di tossicità indipendenza della dose, dell'organo interessato, del sesso, dell'età e della specie; per quanto riguarda i rischi cronici, specialmente il cancro, le micotossine sono state classificate al primo posto tra i rischi

alimentari. In generale bisogna considerare i seguenti aspetti riguardo le micotossine (Fink-Grammels J., 2007):

- Diversi tipi di micotossine hanno la potenzialità di modificare la flora ruminale a causa della loro azione antimicrobica; questo può causare una diminuzione della capacità di degradazione del ruminato che a sua volta può determinare il passaggio di una certa quota di micotossine intatte provenienti da diverse fonti alimentari;
- Ci possono essere interazioni tra differenti tipi di tossine durante la fase di assorbimento e di biotrasformazione;
- L'escrezione delle micotossine nel latte è generalmente bassa. Cambiamenti nella barriera esistente tra il sangue e il latte dovute ad infiammazioni (mastiti) locali o sistemiche possono essere la causa della perdita della sua integrità e della variazione di pH tra il sangue e il latte. Questo può risultare in un'alterazione del tasso di escrezione e facilitare il passaggio delle micotossine nel latte;
- Differenti tipi di micotossine possono esercitare un effetto sul sistema immunitario anche se presenti in piccole quantità. Questo può portare l'animale ad essere più suscettibile alle malattie e ad accelerare i processi infettivi minori; nelle bovine da latte si è osservato un aumento dell'incidenza dei problemi agli arti e delle mastiti attribuibile all'effetto delle micotossine presenti nei foraggi.

Poiché nella dieta somministrata alle bovine a partire da Ottobre 2012 fino a fine Dicembre 2013 sono state riscontrate più volte concentrazioni di aflatossine superiori alla norma queste nello specifico possono aver contribuito in misura maggiore all'insorgenza dei diversi sintomi; un'acuta aflatossicosi provoca lesioni epatiche, portando a congestioni e perdite di sangue. Inoltre determina l'accumulo di acidi grassi nel fegato, nei reni e nel cuore ed è responsabile di encefalopatie ed edemi; l'animale può quindi morire nel giro di poche ore o alcuni giorni. Le tossicosi croniche sono tuttavia più comuni e, anche in questo caso il fegato è il principale organo bersaglio. Le aflatossine agiscono sul DNA legandosi alle basi di guanina, portando le cellule alla morte oppure alterando i processi di trascrizione e traduzione portando allo sviluppo di tumori (Yiannikouris A., Jouany J.P. 2002). Nel caso oggetto di studio, le bovine dell'azienda hanno presentato più volte accessi in varie parti del corpo ed in particolare quelli epatici. Come sostiene anche Lynch G.P. et al, (1970), le aflatossine possono essere considerate molto tossiche, con una potente azione epatocancerogena e mutagena. I giovani animali sono in genere più suscettibili di quelli adulti e ci possono essere variazioni tra le differenti specie. Questi eventi possono portare all'inibizione della sintesi di alcune proteine nel fegato perché le tossine agiscono legandosi al DNA e bloccando anche la sintesi di RNA.



Anche se i vitelli fino a sei mesi di età sono più suscettibili, le aflatossine possono essere responsabili dell'insorgenza di sintomi da tossicosi anche negli animali adulti. Una cronica aflatossicosi può quindi causare: ciclo estrale di lunghezza variabile, aborti, immunosoppressione, crescente sensibilità alle patologie, calo della produzione latte, diarrea, mastiti, disordini respiratori, prolasso del retto e perdita di pelo. A seguito di un'esposizione prolungata all'azione delle aflatossine sono state riscontrate anche alterazioni nel metabolismo dei carboidrati e dei lipidi e della respirazione cellulare (Zuber M.S et al., 1986); questo avviene a causa dell'interazione delle aflatossine con le macromolecole (per esempio acidi nucleici e proteine) e organelli intracellulari (come mitocondri e ribosomi) e a causa dell'interferenza nella produzione di enzimi e di altri regolatori cellulari. Una singola dose eccessiva di aflatossine causa un'epatite acuta con un rigonfiamento dei lobuli epatici e un grave danneggiamento delle funzioni del fegato da tre fino a sei ore dall'ingestione. L'epatite acuta porta quindi a congestioni ed emorragie interne. Mentre quando un animale ingerisce per un lungo periodo ripetute dosi di alimenti contenenti aflatossine, si verifica l'epatite cronica, la quale determina cambiamenti negli epatociti, necrosi centrolobulare, alterazioni della struttura dei lobuli, fibrosi periportale e proliferazione delle cellule dotto biliare. In generale comunque è più comune l'ingestione di piccole dosi di aflatossine da parte delle bovine (da 0,2 a 0,5 ppm); gli animali anche in questo caso mostrano una riduzione delle prestazioni produttive e un rallentamento della velocità di crescita.

Per quanto riguarda le lesioni podali, le bovine allevate sono state oggetto di numerosi trattamenti antinfiammatori necessari per ridurre il problema delle zoppie nell'azienda; da come si è potuto verificare precedentemente, passando dall'anno 2012 al 2013 il

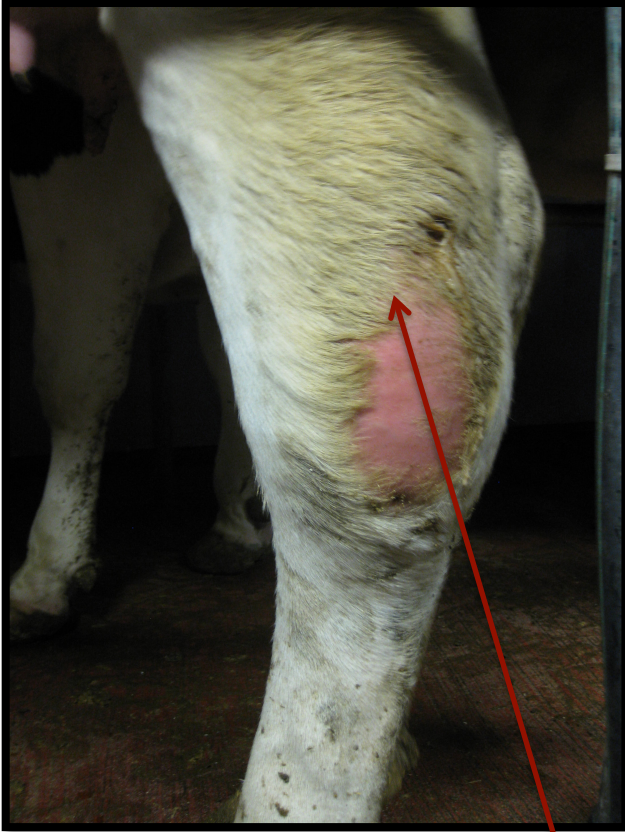


Figure 4.1 e 4.2. Esempio di postura non corretta dell'animale in moto e in stazione

numero delle vacche da latte eliminate dall'azienda a causa di zoppia è aumentato di oltre tre volte (dal 4 al 14%) e il numero delle bovine trattate con prodotti antinfiammatori specifici per curare il dolore agli arti e ai piedi è aumentato in modo considerevole. Di conseguenza si può dedurre che le micotossine hanno avuto un impatto decisamente negativo in quest'ambito paragonabile a quello relativo alla sfera riproduttiva. Nel caso dell'azienda oggetto di studio la maggior parte delle bovine in lattazione presentava alcuni dei sintomi sopra elencati in particolare l'arrossamento della regione coronarica fino a vere e proprie lesioni, infiammazioni e laminiti, gonfiore e ascessi agli arti. Di conseguenza gli animali facevano fatica e soprattutto provavano dolore quando dovevano effettuare degli spostamenti, perciò assumevano anche posture non corrette durante la stazione e il movimento; il profilo della schiena non si mostrava lineare e parallelo al terreno, bensì disegnava un arco, la testa veniva portata verso il basso anziché essere tenuta alta, ed in certe condizioni si potevano vedere le bovine scaricare il peso solo su alcuni arti. Solo in alcuni casi il pelo non mostrava una naturale lucentezza ma si presentava arruffato, e alcuni soggetti erano magri.

Altri esempi di rigonfiamenti e di ascessi agli arti





*Ascessi*

## 5. CONCLUSIONI

I dati di questo caso studio hanno consentito di evidenziare come la presenza delle micotossine abbia avuto ripercussioni negative sulla sfera riproduttiva e sanitaria delle bovine mentre non abbia avuto una significativa ricaduta sulla produzione quanti-qualitativa di latte. I risultati ottenuti in questo allevamento sembrano confermare quanto detto da [Chukwuga O.K. et al. \(2010\)](#), ovvero la difficoltà di quantificare in modo sistematico i molteplici effetti causati dalle micotossine e il loro impatto economico in quanto la loro azione si può manifestare in varie fasi e in modo differenziato nelle diverse realtà aziendali.

Per quanto riguarda la realtà produttiva oggetto della presente ricerca, possiamo affermare che pur in assenza di un danno diretto attraverso una penalizzazione della produzione e della qualità del latte, le economie aziendali sono state significativamente penalizzate dai maggiori costi imposti dai problemi sanitari e riproduttivi emersi nel periodo della contaminazione. Non va inoltre tralasciato il maggior costo alimentare imposto dalla parziale sostituzione degli alimenti contaminati prodotti in azienda con materie prime di derivazione extra-aziendale e le ore di lavoro aggiuntive imposte dai trattamenti terapeutici e dalle riformulazioni delle razioni nel tentativo di ridurre il livello di contaminazione. Infine va ricordato che trattandosi di un problema di tossicità, gli effetti negativi delle micotossine si perpetuano sulla salute ed il benessere delle bovine per un periodo ben più prolungato della presenza in mangiatoia dei contaminanti.

Alla luce di queste considerazioni, appare fondamentale nel moderno allevamento della vacche da latte l'obiettivo di prevenire e contenere i problemi legati alla presenza delle micotossine. In quest'ottica è importante ottemperare tutta una serie di interventi che riguardano anche aspetti apparentemente lontani dalla stalla; di seguito ne propongo un elenco di quelli particolarmente rilevanti:

- **Buone pratiche agronomiche** per evitare lo sviluppo dei funghi in campo e la relativa produzione di micotossine. Tra queste vanno ricordate le rotazioni colturali che purtroppo sono state quasi abbandonate nella nostra Pianura Padana lasciando spazio alla monocoltura del mais. Per affrontare in modo migliore la frequente siccità estiva va poi suggerita la possibilità di ricorrere all'irrigazione della coltura. Altre strategie riguardano il ricorso a cultivar resistenti all'attacco di funghi micotossigeni, l'uso di pesticidi e la scelta dell'epoca di semina ottimale che ha un'influenza significativa sull'accumulo di micotossine. In particolare, un anticipo della semina si traduce, generalmente, in un minor rischio di accumulo di micotossine, benché fluttuazioni climatiche possano vanificarne l'efficacia.

Inoltre, come sostiene [Battilani P. et al.\(2006\)](#), è utile cercare di limitare i danni fisici delle cariossidi: questi infatti sono tra gli elementi che più favoriscono l'attacco dei funghi, promuovendo così le contaminazioni post-raccolta; è quindi necessaria un'opportuna regolazione delle mietitrebbie per ridurre le rotture e per eliminare dal prodotto le cariossidi ammuffite, spesso dotate di un peso specifico inferiore.

- **Miglioramento delle tecniche post-raccolta** che coinvolgono sia la realizzazione di adeguati ambienti di stoccaggio ed essiccazione delle granelle, che rispetto il rispetto dei parametri fondamentali per la conservazione degli insilati. Meno sostenibili dal punto di vista economico, appaiono interventi quali il trattamento con agenti antimicrobici (naturali o di sintesi), l'immagazzinamento in atmosfere controllate e in condizioni di bassa temperatura e umidità relativa. Un'altra frontiera ancora abbastanza lontana dalla realtà pratica aziendale appare quella del ricorso a pratiche di decontaminazione e/o detossificazione degli alimenti "problema" tanto che all'attualità le soluzioni proposte riguardano la loro eliminazione o la diluizione in sede di formulazione delle razioni.

- **Frequente monitoraggio dei livelli di tossine in alimenti e diete** adottando un protocollo di analisi chimiche che preveda routinari campionamenti delle possibili materie prime a maggior rischio di contaminazione.

- **Attento management aziendale** che accanto al controllo alimentare preveda anche un'accurata osservazione delle condizioni e del comportamento degli animali in modo da identificare precocemente situazioni di rischio riconducibili alla contaminazione, prevenire e curare eventuali situazioni da tossicosi.

Questi ultimi due punti richiedono un evidente salto di qualità dal punto di vista professionale per l'allevatore che deve operare le proprie scelte gestionali in totale sinergia con l'agronomo, il nutrizionista e il veterinario aziendale. Il successo dell'allevamento appare più che mai dipendente dalla creazione di questo "working team" che operi in modo trasparente e interattivo per quanto riguardano le proprie specifiche competenze.

All'allevatore spetta il compito di saper creare e coordinare questo gruppo di lavoro da cui deriveranno le scelte gestionali che condizioneranno in modo decisivo la salute e la produzione delle bovine ma anche la sicurezza igienico sanitaria del latte prodotto.

## BIBLIOGRAFIA

- ❖ Akande K.E, Abubakar M.M.,Adegbola T.A. e Bogoro S.E (2006). **Nutritional and Health Implications of Mycotoxins in Animal Feeds: A Review**, Pakistan Journal of Nutrition 5(5): 398-403;
- ❖ Battilani P., Pietri A. e Marocco A. (2006). **Micotossine, nuovi problemi e maggiore attenzione per il mais (*Zea Mays*)**, 3: 41-48;
- ❖ Cathey C.G, Huang Z.G, Sarr A.B, Clement B.A e Phillips T.D (1993). **Development and evaluation of minicolumn Assay for the Detection of Aflatoxin M<sub>1</sub> in milk**, Journal of Dairy Science, 77(5): 1223-1231;
- ❖ Causin R. (2006). **Funghi e micotossine**. In *Mais e sicurezza alimentare*, Veneto Agricoltura, 1: 11-29;
- ❖ Chukwuga O.K., Okoli I.C., Opara M.N, Omede A.A, Ogbuewu I.P e M.Iheshiulor O.O (2010). **The Growing Problems of Mycotoxins in Animal Feed Industry in West Africa: A Review**, 4(3): 122-134;
- ❖ Coulombe R.A. (1992). **Symposium: Biological action of Mycotoxins**, Journal of Dairy Science, 76: 880-891;
- ❖ Diekman M.A. e Green M.L (1992). **Mycotoxins and reproduction in domestic livestock**, Journal of Animal Science, 70: 1615-1627;
- ❖ Duckworth B. (2014). **High dairy cow death losses cause for concern**. The Western producer;
- ❖ Fink-Gremmels J. (2007). **Mycotoxins in cattle feeds and carry-over to dairy milk: a review**. Food Additives and contaminants: Part A, 25(2): 172-180;
- ❖ Lynch G.P., Todd G.C., Shalkop W.T e Moore L.A. (1970). **Responses of Dairy Calves to Aflatoxin-Contaminated Feed**, Journal of Dairy Science, 53(1): 63-71;

- ❖ Magan N. e Olsen.M (2004). **Hazard characterization**. In **Mycotoxins in food, Detection and control**, Woodhead publishing Ltd and CRC Press LLC, 8-22;
  
- ❖ Nebbia C. (2002). **Aggiornamenti sulla cinetica e sul meccanismo d'azione delle micotossine di interesse per la vacca da latte**, Large Animals Review, 5 : 19-20;
  
- ❖ Nelson C.E. (1992). **Strategies of Mold Control in Dairy Feeds**, Journal of Dairy Science, 76(3): 898-902;
  
- ❖ Özsoy S., Altunatmaz K., Horoz H., Kaşiki G., Alkan S. e Bilal T. (2004). **The Relationship between Lameness, Fertility and Aflatoxin in a Dairy Cattle Herd**, 29: 981-986;
  
- ❖ SAS/STAT 1990. **User' s Guide: Statistics, Version 9.1**. SAS Institute, Cary, NC, USA.
  
- ❖ Selk G. e Barnes K. **Fescue Foot: Identifying and Minimizing the Problem**, Division of Agricultural Sciences and Natural Resources, Oklahoma State University;
  
- ❖ Sharma R.P.(1992). **Immunotoxicity of mycotoxins**, Journal of Dairy Science, 76(3): 892-897;
  
- ❖ Yiannikouris A. e Jouany J.P. (2002). **Mycotoxins in feeds and their fate in animals: a review**, Animal research, 51(2): 81-99;

- ❖ Zuber M.S., Lillehoj E.B. and Renfro B.L.(1986). **Toxicoses**. In *Aflatoxin in Maize : a proceedings of the workshop*, El Batan,Mexico, sponsored by CIMMYT, UNDP and USAID, 2: 51-71;