

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA  
Dipartimento di Medicina Animale, Produzioni e Salute

Corso di laurea magistrale a ciclo unico in  
MEDICINA VETERINARIA

Valutazione della funzionalità ruminale in  
vitelloni da carne sottoposti a diversa gestione  
sanitaria delle patologie respiratorie al  
momento del ristallo

Relatore  
Dott. Giancesella Matteo  
Correlatore  
Dott. Armato Leonardo

Laureanda  
Valentina Argento  
Matricola n.  
615929/MV

ANNO ACCADEMICO 2013/2014



# Sommario

<b>ABSTRACT</b> .....	5
<b>PREMESSA</b> .....	7
<b>INTRODUZIONE</b> .....	9
1. Metabolismo ruminale del vitellone da carne .....	9
2. Problematiche del vitellone da carne al momento del ristallo.....	15
2.1 Disturbi fermentativi .....	16
2.1.1 Acidosi ruminale .....	17
2.1.2 Alcalosi ruminale.....	24
2.2 Malattia respiratoria bovina (BRD).....	25
2.2.1 Utilizzo dei macrolidi in corso di BRD.....	32
2.2.1.1 Tulatromicina .....	33
<b>OBIETTIVO DELLA TESI</b> .....	38
<b>MATERIALI E METODI</b> .....	39
3. Azienda e animali oggetto di studio .....	39
4. Prelievo del liquido ruminale .....	41
4.1 Determinazione del pH ruminale in campo.....	43
4.2 Determinazione degli AGV in laboratorio .....	43
5. Rilevazione pesi degli animali.....	44
6. Analisi statistica.....	44
<b>RISULTATI E DISCUSSIONE</b> .....	45
<b>CONCLUSIONE</b> .....	58
<b>BIBLIOGRAFIA</b> .....	59



## ABSTRACT

The most critical moment for the beef bull breeding is the housing period: the animals, exposed to many environmental, managerial, dietary and social changes, may undergo so many stressful situations that they could have negative health effects and a negative productive performance in the future. Immunosuppressed bovine could run into many health problems such as respiratory disease: bovine respiratory disease (BRD) is the most known illness as far as beef bull breeding is concerned. Antibiotics, like macrolides, are generally used to contrast it. Among them the tulathromycin is normally used since is one of the most effective active substance, as numerous studies have shown.

The work is about the possibility to evaluate the rumen performance in animal exposed to different ways of health care management (treated animals with tulathromycin and untreated animals) of respiratory disease in housing period.

102 Charolaise male bovines coming from France were chosen and divided in two random groups: on one hand a group of 51 animals treated with tulathromycin and on the other hand an untreated control group of 51 animals. From each bull, a sample of rumen liquid was collected by ruminocentesis in one of these periods: T1, the day after the treatment, T8, 8 days after the drug administration and T15, after 15 days. Each sample was split into two portions: one for the determination of rumen pH with a digital pHmeter in the farm and one for the determination of VFA with the high pressure gas chromatography in the laboratory. Furthermore, the animals were weighed individually at the beginning and at the end of the proof. The results were statistically analysed to evaluate the effect of the treatment on rumen pH, VFA and on the animal weight. The proof confirms the presence of different ruminal performance between the two groups: the tulathromycin treatment showed a modulatory activity of ruminal fermentation especially during the T8 period. It could be justified by ruminal pH results, which were higher in the treated group than in the control (6,02 vs 5,89)

at T8, and by total VFA, higher in the control group than in the treated group (5,84 vs 5,13). Both parameters have a statistically significant difference ( $P < 0,05$ ). The result could be also confirmed by the average value at T8, lower for the treated group than the control one for: acetic acid (2,86 vs 3,18), propionic acid (1,24 vs 1,45), n-butyric acid (0,84 vs 0,96) iso-valerianic acid (0,09 vs 0,12) and n-valerianic acid (0,04 vs 0,06). As far as acetate, propionate and valerate are concerned, there are statistically significant differences ( $P < 0,05$ ). A further confirmation of the beneficial effect of the tulathromycin administration is about the acetic and propionic acid ratio: it was greater in treated group for the whole duration of the proof. And moreover, the treated group exhibited an average increase in weight of 8,6 kg than control group.

## **PREMESSA**

Nell'allevamento del bovino da carne uno dei momenti più critici corrisponde alla fase del condizionamento. In questo periodo gli animali, sottoposti a nuove condizioni ambientali, manageriali, alimentari e sociali, subiscono degli stress tali da causare alterazioni fisiologiche che possono avere effetti negativi sulla salute dell'animale e di conseguenza sulle performance produttive. Ovviamente la manifestazione e l'entità delle reazioni non dipendono solamente dall'intensità dei fattori stressogeni, bensì dalla capacità di adattamento dell'animale che è condizionato da determinate caratteristiche soggettive quali età, razza, sesso, genetica e temperamento.

In questa fase tra le principali problematiche sanitarie vanno annoverate le patologie dell'apparato respiratorio ed i disturbi fermentativi.

Per prevenire queste malattie e massimizzare l'accrescimento, oltre che limitare il numero, l'entità e la durata dei fattori stressanti, talvolta gli animali sono sottoposti a trattamenti preventivi.

La tulatromicina è un antibiotico macrolide che viene utilizzato nella prevenzione e nel trattamento del complesso della malattia respiratoria bovina, principale patologia che affligge gli allevamenti intensivi del vitellone da carne.

L'utilizzo pratico in campo ha messo in evidenza come tale farmaco possa avere un effetto indiretto sullo stato generale di salute dell'animale, in quanto i bovini sottoposti a trattamento riescono ad ottimizzare le risorse alimentari e mostrano un migliore adattamento alla fase critica di condizionamento sopraindicata, con un conseguente miglioramento delle performance produttive.

L'obiettivo del lavoro sarà quello di valutare le performance ruminali in animali che vengono sottoposti a differente gestione sanitaria (animali trattati e animali non trattati con tulatromicina) per il controllo della malattia respiratoria bovina al momento del ristallo.



# INTRODUZIONE

## 1. Metabolismo ruminale del vitellone da carne

Il rumine è un particolare ecosistema in cui prendono origine processi fermentativi biochimici-enzimatici determinati dalla microflora ruminale formata da popolazioni batteriche, protozoarie e fungine.

I batteri rappresentano la popolazione più numerosa, nell'ordine dei  $10^9$ - $10^{12}$  per ml di liquido ruminale. Sono state isolate oltre 200 specie diverse, ma solo circa 20 sono presenti in quantità superiore a  $10^6$  per ml di liquido ruminale (McAllister, 2000).

I batteri vengono classificati in base al tipo di substrato che utilizzano:

- Cellulosolitici ed emicellulosolitici attaccano i carboidrati a funzione strutturale dei foraggi (cellulose ed emicellulose);
- Amilolitici metabolizzano i carboidrati con funzione di riserva (amido);
- Lattici proliferano a condizioni di pH inferiori a 5,5 e contribuiscono ad abbassare ulteriormente il pH ruminale accumulando acido lattico;
- Lattico-utilizzatori convertono l'acido lattico in acido propionico riducendone la concentrazione e preservando il pH ruminale da eccessivi abbassamenti;
- Pectinolitici fermentano principalmente le pectine per produrre acido acetico;
- Lipolitici fermentano i galattogliceridi dei foraggi per produrre glicerolo, galattosio, basi azotate, fosfati e steroli, convertono gli acidi grassi insaturi in saturi;
- Proteolitici idrolizzano le proteine solubili introdotte nel rumine producendo peptidi e amminoacidi che a loro volta sono degradati ad acidi grassi volatili, anidride carbonica e ammoniaca o incorporati in proteina batterica;

- Batteri metanogenici attaccano gli alcoli e gli acidi per ricavarne l'idrogeno necessario a ridurre l'anidride carbonica (CO<sub>2</sub>) a metano (CH<sub>4</sub>);
- Propionobatteri a partire dal lattato sintetizzano il propionato.

La seconda grande categoria di microrganismi ruminanti è quella dei protozoi, presenti nel rumine nell'ordine dei 10<sup>4</sup>-10<sup>6</sup> per ml di liquido ruminale. I protozoi sono fonte di proteine ad elevato valore biologico, amido non fermentato e di acidi grassi polinsaturi. Con il loro movimento rimescolano il contenuto ruminale, sminuzzano gli alimenti grossolani aumentando la superficie d'attacco per i batteri e aiutano a prevenire la sovrapproliferazione microbica quando nel rumine c'è un'eccessiva presenza di amido. Se assenti, si potrebbe assistere ad uno sproporzionato aumento del numero di batteri per mancanza di competizione alimentare soprattutto nei riguardi dell'azoto e ciò potrebbe portare a fermentazioni anomale e ad eccessive produzioni di gas. La loro densità varia in funzione della dieta, del tempo di ritenzione del cibo nel rumine, del tipo e numero di pasti giornalieri e delle condizioni fisico-chimiche del rumine. Il numero massimo di protozoi si raggiunge con una dieta ricca di fibre, al contrario diminuisce con una dieta a base di concentrati. Infatti risentono immediatamente degli stati di acidosi, scomparendo non appena il pH diventa critico per la loro sopravvivenza (McAllister, 2000).

L'ultima popolazione ruminale è formata dai funghi, presenti nell'ordine dei 10<sup>3</sup>-10<sup>4</sup> per ml di succo ruminale. Essi hanno una funzione molto meno importante per la nutrizione dell'ospite rispetto alle altre due popolazioni perché si limitano a favorire una maggiore ingestione di sostanza secca, soprattutto quando gli animali sono alimentati con foraggi grossolani.

I microrganismi ruminanti hanno range di pH ottimali diversi tra loro: ad esempio i protozoi e i batteri cellulolitici richiedono valori di pH superiori a 6,2, mentre i batteri amilolitici sono attivi in condizioni più acide (5,5-6,0) e a valori di pH ancora più bassi vi sono i lattobacilli che producono acido lattico e rendono le condizioni ruminanti ancora più acide e sfavorevoli.

A contatto con la microflora ruminale, i componenti che formano gli alimenti vengono metabolizzati fino a prodotti finali semplici.

- Fermentazione dei glucidi

A partire da cellulose ed emicellulose derivano zuccheri semplici (glucosio, fruttosio, xilosio) che vengono immediatamente utilizzati dai microrganismi ruminanti per il loro metabolismo, liberando gli acidi grassi volatili (AGV o VFA, dall'inglese Volatile Fatty Acids): acido acetico (C2), acido propionico (C3) e acido butirrico (C4). Oltre a questi ne vengono prodotti altri in quantità limitata, come l'acido valerianico e isovalerianico, l'acido isobutirrico e metilbutirrico, l'acido piruvico e l'acido lattico (Avellini, 1998). Gli AGV vengono conseguentemente utilizzati dal ruminante come fonte di energia: l'acido acetico, che deriva dalla fermentazione dei foraggi, è assorbito dalla parete ruminale e nel fegato convertito in acetil-CoA; l'acido propionico, che deriva dalla fermentazione dei concentrati, è assorbito dalla parete ruminale e poi convertito dal fegato in glucosio; l'acido butirrico deriva dalla fermentazione degli zuccheri solubili, esso viene metabolizzato dalla parete ruminale come substrato energetico, con liberazione nel circolo sanguigno di lattato e corpi chetonici. Quest'ultimo esercita un effetto mitotico sull'epitelio ruminale stimolando la crescita delle papille ruminanti, pertanto le condizioni che aumentano la produzione di acido butirrico possono prevenire l'abbassamento del pH ruminale per rimozione degli acidi attraverso la parete (Dijkstra et al., 2012).

La quantità e la qualità di AGV che vengono prodotti dipende dalla popolazione microbica ruminale, poiché ogni specie microbica mostra una specificità di

substrato e vie metaboliche caratteristiche, condizioni che variano in base alle differenti diete somministrate (Bannink et al., 2008). Ad esempio se si somministra una dieta ricca di foraggi grossolani (fieno, paglia), questi stazionano per lungo tempo a livello del rumine e i processi fermentativi altrettanto prolungati nel tempo degradano i glucidi lentamente, ma in modo massivo, producendo elevate quantità di acido acetico (65-75%) in sfavore dell'acido propionico (15-20%). L'ambiente acido che si viene a creare è mantenuto sotto controllo grazie all'elevata produzione di saliva (12-14 litri/kg SS), conseguente al prolungato tempo dedicato a masticazione e ruminazione (40-50 minuti/kg SS) cui sono sottoposti gli alimenti fibrosi grossolani, e grazie alla velocità di assorbimento degli AGV da parte della parete ruminale che è contemporanea alla loro produzione (Nagaraja e Titgemeyer, 2007). In questa situazione il rapporto acido acetico/acido propionico (C2/C3) rimane superiore a 3, per maggiore produzione di acido acetico. Viceversa, se si somministra una razione ricca di concentrati e carboidrati facilmente fermentescibili, i glucidi vengono degradati molto velocemente, ma le dimensioni delle particelle alimentari non stimolano la masticazione e la ruminazione (25-30 minuti/kg SS) e di conseguenza l'attività tamponante della saliva è ridotta per sua scarsa produzione (meno di 8 litri/kg SS). L'ambiente ruminale si acidifica a tal punto da influenzare negativamente l'accrescimento e l'attività dei batteri cellulosolitici, ma facilitare l'accrescimento e l'attività dei batteri amilolitici (Dijkstra et al., 2012); consegue un'abbondante produzione di acido propionico (30-35%) e acido lattico a scapito dell'acido acetico (55-60%) e un rapporto C2/C3 a livelli vicini o inferiori a 2.

Risulta pertanto molto importante mantenere un'omogeneità nel tipo di alimentazione, senza cambi di formulazione improvvisi, in occasione dei quali occorre agire sempre in maniera graduale per non provocare squilibri microbici a livello ruminale che si tradurrebbero in problemi sanitari e perdite produttive in azienda.

- Fermentazione delle proteine

Le proteine di derivazione alimentare possono venire fermentate dalla flora microbica ruminale (60-70%), by-passare il rumine e venire idrolizzate a livello del piccolo intestino o essere escrete con le feci.

La velocità e l'entità di degradazione delle proteine nel rumine dipendono dall'attività proteolitica della microflora ruminale e dal tipo di proteina (Bach et al., 2005).

I batteri, degradando le proteine alimentari, producono peptidi e amminoacidi che possono essere sottoposti all'azione di peptidasi e deaminasi producendo AGV, ammoniaca e CO<sub>2</sub>, o possono servire alla sintesi di proteine ex-novo necessarie alla loro crescita. Ovviamente, la produzione di nuove proteine è vincolata dalla presenza di una fonte di energia adeguata (amidi, zuccheri) senza la quale non si verrebbero a creare i legami tra i peptidi (Bach et al., 2005).

I batteri sono in grado anche di utilizzare l'azoto non proteico (urea, ammidi, nitrati, nitriti) dal quale producono ammoniaca, utilizzata anch'essa a produrre amminoacidi necessari alla moltiplicazione e alla crescita di nuove cellule batteriche. L'eventuale ammoniaca in eccesso si accumula nel rumine ed entra nel circolo sanguigno, dove a livello del fegato viene convertita in urea ed escreta con saliva, urina, latte (in vacche in lattazione). Tuttavia una razione eccessivamente ricca di proteine, oltre ad essere economicamente sconveniente, è anche pericolosa perché la sovrapproduzione di ammoniaca che ne deriva può indurre uno stato di affaticamento epatico o addirittura un'intossicazione dell'animale.

Infine i batteri passando nel piccolo intestino sono digeriti dall'animale ospite e con questi le proteine di elevato valore biologico in grado di soddisfare i fabbisogni proteici giornalieri del ruminante.

- Fermentazione dei grassi

I lipidi entrati nel rumine subiscono una rapida lipolisi: le lipasi batteriche idrolizzano i trigliceridi in glicerolo ed acidi grassi. Il glicerolo è principalmente metabolizzato dai batteri da cui viene prodotto acido propionico. Diversamente gli acidi grassi possono avere differenti destini: possono venire utilizzati dai microrganismi, ad esempio vengono incorporati nelle membrane fosfolipidiche cellulari; in parte vengono salificati con il calcio, riuscendo così a by-passare inalterati il rumine; una piccola parte a catena corta, può venire assorbita attraverso le pareti ruminali.

Una volta avvenuto il processo di lipolisi, gli acidi grassi insaturi quali acido oleico, acido linoleico e acido linolenico, vengono processati tramite la bioidrogenazione: sono utilizzati da vari ceppi batterici e protozoi come accettori di ioni idrogeno subendo un'idrolizzazione e una conversione ad acidi grassi saturi, e in questa forma giungono al duodeno (Drackley, 2000).

L'attività biochimico-fermentativa ruminale è accompagnata dalla complessa e coordinata attività motoria prestomacale che favorisce: la frammentazione meccanica degli alimenti, il rimescolamento con la saliva secreta, la distribuzione uniforme dei batteri nella massa, la stratificazione del contenuto ruminale (le componenti leggere e di maggiori dimensioni si dispongono in superficie, mentre quelle piccole e pesanti scendono verso il fondo e si immergono nel liquido ruminale), favorisce la mobilitazione e l'assorbimento degli AGV prodotti, avvicina l'alimento più grossolano e i gas di fermentazione (principalmente CO<sub>2</sub> e CH<sub>4</sub>) al cardias rendendo possibile rispettivamente la ruminazione e l'eruttazione, infine convoglia i residui alimentari e la massa batterica verso l'omaso-abomaso (Avellini, 1998).

## **2. Problematiche del vitellone da carne al momento del ristallo**

Nell'allevamento del bovino da carne, una delle fasi più critiche è quella del condizionamento, detta anche di adattamento: periodo che corrisponde ai primi 20-30 giorni successivi all'arrivo in azienda.

In questa fase l'animale si trova a dover fronteggiare nuove condizioni ambientali e sociali che rappresentano un notevole stress a cui spesso conseguono reazioni fisiologiche e psicologiche di entità tale da compromettere la salute del soggetto e le performance produttive successive (Dell'Orto et al., 2005). Uno dei principali motivi per cui la fase di adattamento rappresenta un momento critico è infatti la stretta relazione esistente tra lo stress e la capacità di risposta immunitaria dell'organismo e, conseguentemente, la sua suscettibilità alle malattie (Dell'Orto et al., 2005), in quanto le condizioni stressanti favoriscono lo sviluppo dell'immunodepressione (Smith, 2004). Conseguenza di tale stato è una compromissione delle condizioni sanitarie dell'animale: legata alla durata e all'intensità dei fattori stressogeni (diverse condizioni di temperatura e umidità, variazioni alimentari, ambientali, sociali, scambio di patogeni, traumi) cui il soggetto è sottoposto prima, durante e dopo la sua movimentazione dai luoghi di commercializzazione all'allevamento di destinazione. Oltre a questi importanti fattori, un ruolo fondamentale nell'influenzare l'adattamento dei bovini di nuovo arrivo viene svolto dai fattori soggettivi: sesso, razza e peso (Sgoifo Rossi et al., 2008). Importante anche lo stato nutrizionale dell'animale nei momenti che precedono e seguono il trasporto: anch'esso gioca un ruolo determinante nella patogenesi delle problematiche sanitarie poiché durante le movimentazioni è ridotta l'assunzione dell'alimento e compromessa la funzionalità ruminale (Dell'Orto et al., 2005).

Pertanto un bovino da ristallo al momento dell'arrivo in allevamento si potrà ritrovare in uno stato di immunodepressione, riduzione di motilità intestinale, alterazione dell'assorbimento di importanti nutrienti, compromissione della capacità fermentativa ruminale, aumento dei fabbisogni nutritivi, aumento dell'eliminazione renale di oligominerali essenziali.

Dunque durante il condizionamento si possono concentrare problematiche sanitarie che, diverse per incidenza e gravità, compromettono la salute del soggetto e le performance produttive durante la prima fase di accrescimento ed oltre.

I problemi che destano maggiore preoccupazione durante la fase di adattamento del bovino da carne da ristallo sono: patologie all'apparato respiratorio, patologie digestive, affezioni all'apparato locomotore, parassitosi, malattie metaboliche e carenziali.

## **2.1 Disturbi fermentativi**

L'allevamento del vitellone da carne si fonda sulla costante ricerca della massimizzazione delle performance di crescita con lo scopo di ridurre il tempo di permanenza dei bovini in allevamento, aumentare il numero di animali allevati per anno, limitare l'incidenza dei costi fissi sul costo di produzione di ogni singolo capo, incrementare la redditività aziendale ed ovviamente la produzione di animali in ottimo stato di ingrassamento; in tale ottica assume notevole importanza la gestione alimentare (Sgoifo Rossi et al., 2009). Infatti per raggiungere l'obiettivo è necessario apportare nutrienti adeguati che permettano di produrre più energia possibile necessaria all'accrescimento. Il precursore più importante del glucosio è l'acido propionico, che derivato dalla fermentazione dell'amido, costituisce il principale substrato per la gluconeogenesi nei ruminanti (Bannink et al., 2006; Dijkstra et al., 2012). Per questo motivo nell'allevamento del bovino da carne vengono somministrate diete ad alto contenuto di concentrati facilmente fermentescibili che permettono la produzione di elevate quantità di acidi grassi volatili e dunque di acido propionico. Gli AGV prodotti dovrebbero essere costantemente rimossi attraverso l'assorbimento da parte della parete ruminale, ma ciò non avviene essendo tale produzione eccessiva, per cui gli AGV si accumulano (Nagaraja e Titgemeyer, 2007). Inoltre queste diete, ridotte di fibra ed eccessivamente macinate, riducono il tempo dedicato alla masticazione e, dunque, hanno un effetto negativo sull'abilità dell'animale di

tamponare il pH ruminale a causa di un'inadeguata produzione salivare (Morgante et al., 2007). Entrambi i fattori, ridotta produzione di saliva ed elevata di AGV, permettono il raggiungimento di un pH ruminale al di sotto di 6,0, necessario alla produzione di abbondante acido propionico (Bannink et al., 2008), ma è una situazione che può portare allo sviluppo dell'acidosi ruminale (Dijkstra et al., 2012).

### **2.1.1 Acidosi Ruminale**

L'acidosi ruminale è una patologia metabolica dovuta ad alterazione fermentativa ruminale per squilibrio alimentare conseguente alla somministrazione di diete ad elevato contenuto di carboidrati facilmente fermentescibili ed è definito come un disordine associato ad un pH ruminale al di sotto della soglia fisiologica (Plaizier et al., 2008). Tale disturbo metabolico affligge gli allevamenti intensivi del vitellone da carne e soprattutto gli allevamenti della vacca da latte, influenzando negativamente le fermentazioni ruminali, la salute animale, la produzione e il profitto aziendale (Krause e Oetzel, 2005).

#### *Eziologia*

Si tratta di una patologia multifattoriale, ma sicuramente il principale fattore che influenza l'andamento negativo del pH è la composizione della dieta: la quantità di amido ingerita rispetto alla fibra, la fonte amilacea (mais, grano, orzo) e la grandezza delle particelle (De Nardi et al., 2014). Certamente sono implicati anche altri fattori quali: la modalità di somministrazione dell'alimento, la capacità del rumine di adattarsi alle modifiche della dieta, il tempo interposto tra il momento di assunzione dell'alimento e il rilievo del pH ruminale, la frequenza di ingestione e di somministrazione dell'alimento, fattori ambientali che possono condizionare l'assunzione dell'alimento come la stagionalità, il tipo di stabulazione, il trasporto e le interazioni sociali.

## *Patogenesi*

La base da cui parte la condizione acidotica è un sovraccarico ruminale: indotto da uno squilibrio tra il quantitativo di fibra e il quantitativo di concentrati somministrati con la razione. Fornire un'alimentazione ad alta digeribilità può favorire l'alterazione del rapporto tra le varie specie di microrganismi (sovraccrescita di batteri gram-positivi, in particolare di *Streptococcus bovis* che cresce più rapidamente di altre specie, a sfavore dei gram-negativi e dei protozoi) e della loro attività fermentativa (elevata produzione di acido propionico e acido lattico a sfavore dell'acido acetico) portando ad un disquilibrio metabolico prestomacale per abbassamento del pH ruminale (Avellini, 1998).

I batteri che utilizzano come substrato gli amidi portano normalmente alla produzione di AGV tra cui piccole quantità di acido lattico, ma aumentando il substrato di fermentazione, la produzione eccede. Elevate quantità di AGV agiscono sui siti recettoriali della parete ruminale inibendo l'attività motoria di rumine e reticolo. Se diminuisce la motilità prestomacale anche la ruminazione e quindi la produzione di saliva diminuiscono. Una riduzione di saliva e il contemporaneo aumento della concentrazione di acido lattico danno origine ad un ulteriore abbassamento di pH ruminale. Quando il pH si mantiene al di sopra di 5,5, le fermentazioni portano ad una maggiore produzione di acido propionico, rispetto ad acido acetico e butirrico, mentre la produzione di acido lattico rimane bassa essendoci un equilibrio fra i batteri produttori e utilizzatori, quindi l'acido lattico non si accumula nel rumine (Nocek, 1997). Quando il valore di pH ruminale si porta al di sotto di 5,5, la velocità di produzione supera quella di rimozione, poiché i batteri cellulolitici ed in particolare i lattico-utilizzatori non sopravvivono; al contrario batteri come *Streptococcus bovis* e i lattobacilli moltiplicano e producono due forme di acido lattico che si accumulano nel rumine: il D(-) e L(+) lattato, presenti nel rumine di animali sani solo a basse concentrazioni (Owens et al., 1998; Dijkstra et al., 2012). L'acido lattico accumulato nel rumine crea un ambiente ostile ai protozoi e ai funghi e le loro popolazioni diminuiscono precipitosamente; richiama liquidi dal circolo

sanguigno per l'elevato gradiente osmotico causando situazioni patologiche quali idrorumine, disidratazione, emoconcentrazione; favorisce la comparsa di necrosi e ruminiti batteriche o micotiche, che con frequenza determinano per diffusione linfo-ematica ascessi epatici e infezioni in altri organi. A livello sistemico si instaura un'acidosi metabolica a causa dell'enorme assorbimento di acido lattico, in particolare dell'isomero L, unitamente a quello degli AGV. Inoltre è possibile una diffusione nel circolo periferico di endotossine e amidi (istamina) derivanti dalla proliferazione di microbi opportunisti (Owens et al., 1998). Infine, l'ipomotilità prestomacale si ripercuote anche sull'abomaso e sull'intestino portando ad una riduzione dei processi digestivi e all'elevata osmolarità deriva diarrea con perdita di liquidi, bicarbonati e oligoelementi importanti.

In questa condizione l'animale deve far ricorso alle riserve organiche per la neogluconeogenesi, ma ciò crea la base per lo sviluppo della chetosi e della sindrome da lipomobilizzazione (Avellini, 1998; Annison et al., 2007).

### *Segni e Sintomi*

Questa patologia non sempre si presenta con la stessa intensità: in funzione dell'eziologia, della patogenesi e della sintomatologia, si distingue su base clinica un'acidosi ruminale acuta, subacuta e cronica. L'evoluzione può dipendere, oltre che da condizioni soggettive, principalmente dall'entità dei processi fermentativi acidi, dalla durata dell'apporto dei nutrienti responsabili e quindi della durata dello stato di acidosi.

- **Acidosi ruminale acuta**

Detta anche acidosi lattica o D-lattica, evento patologico accidentale in cui acidità e osmolarità del contenuto ruminale aumentano improvvisamente. È caratterizzata da un abbassamento del pH ruminale a livelli inferiori di 5,2 fino ad arrivare anche a 4,0. Generalmente si riconosce come causa più probabile la massiva ingestione di grandi quantità di carboidrati rapidamente fermentescibili che derivano dai cereali o da mangimi concentrati altamente energetici, a cui

normalmente l'animale non dovrebbe aver libero accesso. Il soggetto va incontro a sovraccrescita batterica e iperproduzione non compensata di acido lattico a livello ruminale, acidosi metabolica, anoressia, diarrea, disidratazione, depressione, tossiemia, ruminite iperacuta e addome acuto. Ha un decorso rapido e talvolta fatale in meno di 24 ore (Annison et al., 2007).

- Acidosi ruminale cronica

Patologia frequentemente riscontrata nei vitelloni da carne, in cui il valore del pH ruminale si aggira costantemente tra 5,0 e 5,5 per l'elevato contenuto di concentrati nella dieta. Essendo una condizione cronica, l'organismo riesce ad adattarsi a questo stato che diventa una condizione quasi parafisiologica: questo tipo di diete favoriscono un adattamento della flora microbica ruminale, con la selezione di alcuni ceppi di batteri amilolitici a sfavore di altri cellulolitici e un diverso rapporto nella produzione degli AGV, che vede aumentare gli acidi propionico e butirrico a scapito dell'acido acetico (Garrett et al., 1999). Il soggetto non subisce danni acuti, ma un lieve calo delle performance produttive e una moderata acidosi metabolica.

- Acidosi ruminale subacuta

Patologia nota anche come SARA (dall'inglese Subacute Ruminant Acidosis) è senza dubbio una delle patologie più studiate nell'ambito dell'allevamento bovino, principalmente quello da latte.

La patologia trova tra le sue cause principali sempre uno squilibrio nel rapporto tra foraggi e concentrati, ma ciò che la rende particolarmente insidiosa è il fatto che non ha una propria manifestazione clinica ben definita, i sintomi non sono eclatanti, né specifici e generalmente hanno un decorso subdolo e insorgenza ritardata rispetto alla comparsa dello stato acidotico (Krause e Oetzel, 2006; Morgante et al., 2007). Secondo Nordlund e Garrett (1994) valori di pH ruminale compresi fra 5,0 e 5,5 sono ritenuti anormali e suggestivi di SARA, mentre valori fra 5,6 e 5,8 sono da ritenersi al limite. In letteratura si trovano fonti che

assumono la responsabilità della SARA nello sviluppo di condizioni come laminite (Nocek, 1997), mastite e metrite (Enemark et al., 2002), alterazioni della produzione e della qualità del latte e calo delle condizioni corporee (Oetzel, 2000), senza però che ci siano prove dell'effettiva correlazione tra l'acidosi ruminale e queste manifestazioni cliniche (Kleen e Cannizzo, 2012).

### *Diagnosi*

Quando ci si trova di fronte ad un caso di acidosi ruminale acuta può essere facile la diagnosi visto il decorso eclatante e rapido, risulta invece di fondamentale importanza una corretta diagnosi nei casi in cui la patologia sia subclinica: con sintomatologia vaga, ambigua, non patognomonica, in cui gli aspetti da tenere in considerazione sono numerosi (Duffield et al., 2004; Morgante et al., 2007).

Un primo approccio consiste nella raccolta di dati clinico-anamnestico della mandria non tralasciando l'analisi dell'alimento. In seguito, la prova chiave per una corretta diagnosi di acidosi ruminale è l'esame del liquido ruminale: unico mezzo che permette l'analisi diretta del pH e del contenuto ruminale in un preciso momento (Nordlund e Garrett, 1994; Enemark et al., 2002).

Il prelievo può essere eseguito con diverse tecniche:

- Sonda ruminale (Enemark et al., 2004; Annison et al., 2007), tubo di materiale plastico, trasparente, flessibile, lungo circa 3,5 m per 19 mm di diametro, dotato di pompa aspirante all'estremità esterna e di una testa cilindrica forellata di ottone che deve essere inserita attraverso l'esofago fino al sacco ventrale del rumine. Questo metodo di raccolta è relativamente semplice, ma presenta degli svantaggi: il campione corre il rischio di essere contaminato con la saliva, la pompa può creare turbolenze e causare perdite di CO<sub>2</sub> e il pH può variare a seconda del punto raggiunto dalla sonda nel rumine, rendendo il campione ottenuto molto variabile.

Pertanto il prelievo con sonda risulta svantaggioso per l'analisi del liquido ruminale: campioni prelevati con sonda ruminale mostrano valori più elevati, compresi tra 0,28 e 1,1 unità di pH, rispetto ai campioni prelevati per ruminocentesi (Enemark, 2008).

- Ruminocentesi, tecnica migliore per il prelievo del liquido ruminale (Nordlund e Garrett, 1994). Metodo che permette di ottenere campioni standard senza la contaminazione alcalina della saliva come nei campioni prelevati con sonda ruminale (Nordlund et al., 1995) e sempre nello stesso sito ad ogni prelievo (Garrett et al., 1999). La ruminocentesi è considerata oggi la migliore tecnica per la diagnosi di acidosi ruminale subacuta (Morgante et al., 2007). E' una metodica sicura, poco invasiva, senza effetti collaterali eclatanti e ben tollerata dai soggetti (Gianesella et al., 2010).

### *Prevenzione*

Dal momento che la maggior parte dei casi di acidosi ruminale non è clinicamente evidente e le perdite economiche sono ritardate nel tempo rispetto all'insorgenza della patologia, è preferibile intervenire per prevenire il disturbo piuttosto che trattarlo con una terapia mirata una volta riscontrato (Enemark, 2008).

L'acidosi ruminale è strettamente collegata a condizioni non ottimali di alimentazione, per questo, la principale strategia su cui agire per risolvere il problema è il management dell'alimentazione: importante assicurarsi che formulazione alimentare, preparazione e distribuzione dell'alimento siano ottimali. Ad esempio la durata della miscelazione nel carro miscelatore non deve essere prolungata per evitare un eccessivo sminuzzamento della fibra, in modo che la sua dimensione possa stimolare masticazione, ruminazione e quindi produzione di saliva. Il tempo dedicato alla masticazione è pertanto un importante parametro di prevenzione dell'acidosi ruminale.

Somministrare *buffer* in una razione alimentare scarsa di fibra ha dimostrato di essere benefico nella prevenzione dello stato di acidosi. Ad esempio è possibile utilizzare additivi minerali quali bicarbonato di sodio ( $\text{NaHCO}_3$ ) o ossido di magnesio ( $\text{MgO}$ ) in piccole quantità per tamponare l'ambiente acido ruminale (Enemark, 2008).

Inoltre è possibile aggiungere alla razione preparati contenenti batteri lattico-utilizzatori o lieviti, che migliorano le condizioni del rumine riducendo il rischio di sviluppare acidosi ruminale. I lieviti hanno dimostrato un effetto benefico sulla popolazione microbica, andando a stimolare la produzione e l'attività dei batteri cellulolitici nella fermentazione della fibra. Competono per l'utilizzo dell'amido presente nella dieta e diminuendo l'ossigeno disponibile, ostacolano la proliferazione dei batteri lattico-produttori, come *Streptococcus bovis*, riducendo così la produzione di acido lattico e l'abbassamento di pH ruminale. Inoltre i lieviti producono fattori (amminoacidi, peptidi, acidi organici) che stimolano la crescita dei microrganismi lattico-utilizzatori, forniscono tiamina, necessaria alla crescita e proliferazione dei funghi e stimolano la proliferazione dei protozoi (Ding et al., 2014).

Altra strategia è l'utilizzo di antibiotici ionofori per selezionare una flora microbica più favorevole all'ambiente che si viene a creare somministrando diete ricche di substrati fermentescibili. Gli ionofori inibiscono la crescita dei batteri gram-positivi a favore dei batteri gram-negativi, per cui la produzione di acido propionico aumenta, mentre la produzione di acido lattico, acido acetico e butirrico diminuisce. Inoltre è stato notato un aumento dell'efficienza digestiva dal 5% al 10% in seguito alla loro somministrazione (McAllister, 2000).

### **2.1.2 Alcalosi ruminale**

L'alcalosi ruminale è un disturbo fermentativo caratterizzato da pH ruminale alcalino comunemente associato a riduzione delle fermentazioni microbiche e contemporanea ingestione di saliva. Il pH ruminale si può trovare compreso tra valori di 7,0 e 7,5 a seguito di prolungata anoressia, inattività della flora microbica, causato da scarso apporto di foraggi facilmente digeribili, e talvolta da semplice indigestione. La bassa velocità fermentativa a livello ruminale non genera abbastanza acidi tali da neutralizzare la continua e copiosa produzione di saliva, dunque il pH ruminale si alcalinizza; in aggiunta, l'assorbimento degli AGV attraverso la parete avviene per contemporaneo rilascio di bicarbonato nel fluido ruminale, pertanto ciò contribuisce all'alcalinizzazione dell'ambiente ruminale.

L'alcalosi ruminale può derivare anche dall'abbondante generazione di ammoniaca, che a sua volta deriva dalla somministrazione di diete ad elevato contenuto di proteine. Ma normalmente il pH ruminale non aumenta se la dieta contiene un'adeguata quantità di carboidrati facilmente fermentescibili. Tuttavia è possibile lo sviluppo di uno stato di alcalosi ruminale molto più severo (pH > 7,5) a seguito dell'ingestione di elevate quantità di azoto non proteico (urea, biureto, fosfato di ammonio) come ad esempio dopo l'assunzione accidentale di fertilizzanti che contengono sali di ammonio. In questi casi, il liquido ruminale è caratterizzato da un pH alcalino con valori compresi tra 7,5-8,5 e forte odore ammoniacale. L'animale mostra una sintomatologia generale con tremori muscolari, incoordinazione, debolezza, tachipnea, eccitazione del SNC e rapida morte. Il bovino può presentare anche sintomi di disfunzione prestomacale, come ipotonia ruminale, meteorismo, vomito, dolore addominale e diarrea. Nei casi non troppo gravi ridotta assunzione di alimento, ipocinesia ruminale, meteorismo ricorrente e diarrea sono i sintomi principali (Garry e McConnel, 2014).

## **2.2 Malattia respiratoria bovina (BRD)**

I fattori stressogeni che accompagnano l'animale durante la fase di adattamento sono in grado di suscitare una risposta di fase acuta nel bovino da carne (Cooke et al., 2011) notoriamente in grado di compromettere salute e rendimento dell'animale durante l'ingrasso (Araujo et al., 2010). La risposta di fase acuta è essenziale per il ripristino omeostatico che segue un'infezione o un trauma, ma è possibile che quando sia indotto da fattori stressanti non sia strettamente necessario e abbia effetti dannosi sui parametri della salute, contribuendo a determinare un successivo stato di immunodepressione (Cooke, 2014). Tale condizione si definisce in seguito ad una elaborazione da parte del sistema nervoso centrale mediante l'attivazione di due meccanismi neuroendocrini: l'asse simpatico-adreno-midollare e quello ipotalamo-ipofisi-surrene. Questi assi orchestrano il rilascio di neurotrasmettitori e degli ormoni ipofisari e surrenalici necessari per regolare le risposte fisiologiche, immunologiche, metaboliche e comportamentali ai fattori stressanti (Earley, 2014). Dunque l'animale in fase di condizionamento essendo sottoposto a maggiore rischio di trasmissione di patogeni e, per la soppressione del sistema immunitario, alla loro invasione, è maggiormente suscettibile alle patologie respiratorie.

Una delle patologie di maggior rilevanza dell'apparato respiratorio è la forma denominata complesso della malattia respiratoria bovina (BRD, dall'inglese Bovine Respiratory Disease). Tale malattia rappresenta una delle principali cause che interferiscono con la redditività dell'allevamento intensivo del vitellone da carne in tutto il mondo causando: perdite economiche di tipo diretto, come il decesso dei soggetti colpiti e gli elevati costi per medicinali sia per la prevenzione che per la terapia, e costi di tipo indiretto per ciò che riguarda la riduzione dell'incremento ponderale nell'arco di permanenza in allevamento e quindi una ridotta resa alla macellazione (Galmozzi et al., 2009; Fucci et al., 2012).

La BRD è una "patologia di gruppo", molto contagiosa, con quadri clinici a rapida evoluzione, per definizione polifattoriale: influenzata da molteplici fattori

soggettivi, ambientali e manageriali che compromettono le difese immunitarie locali e sistemiche dell'animale favorendo la rapida proliferazione di diversi patogeni in grado di agire singolarmente o sinergicamente (Nickell e White, 2010).

Le forme respiratorie insorgono generalmente in un arco di tempo compreso tra i 6 e i 10 giorni dopo l'esposizione all'evento stressante (Fucci et al., 2012) e hanno un andamento stagionale: in autunno la BRD si aggrava in termini di incidenza e gravità per accentuarsi in inverno, poiché basse temperature e umidità sono fattori predisponenti (Gay e Barnouin, 2009); nei mesi primaverili ed estivi è tendenzialmente sporadica, con focolai comunque gravi sul piano clinico ed economico (Galmozzi et al., 2009).

Fra le diverse variabili individuali e di gruppo, il peso e l'età dei bovini sono quelle che maggiormente influenzano la morbilità e la gravità della BRD. Il sesso e la razza, indicati da alcuni autori come condizionanti la patologia (Sgoifo Rossi et al., 2008), sono direttamente correlati a loro volta al peso, inferiori nei bovini di sesso femminile o nei soggetti di razza Limousine rispetto ai Charolaise (Galmozzi et al., 2009).

### *Eziologia*

La frequenza e la gravità della BRD dipende dall'interazione tra numerosi fattori di rischio che comprendono il paziente, l'ambiente e i patogeni (Lekeux, 2008; Gay e Barnouin, 2009).

1. I fattori correlati all'animale includono l'età (maggiore frequenza nei giovani per immaturità funzionale dell'apparato respiratorio), il peso, il grado di immunità raggiunto, le condizioni generali, la ridotta capacità respiratoria (nel bovino inferiore rispetto ad altre specie).
2. I fattori legati all'ambiente includono lo stress generato da situazioni di variazione della dieta, dell'ambiente, della temperatura e umidità, il

management (vaccinazioni, igiene, quarantena, tutto pieno/tutto vuoto), il tipo di stabulazione (densità, ventilazione), la stagione, la provenienza geografica, le modalità di trasporto, il rimescolamento, l'uomo (in grado di modificare sostanzialmente i risultati sanitari e gestionali a prescindere da vaccinazioni e terapie routinarie).

3. Gli agenti patogeni coinvolti nella sindrome sono numerosi (Ellis, 2001; Hodgins et al., 2002):
  - Virus → *Herpes virus bovino tipo 1* (BHV1), *Virus respiratorio sinciziale bovino* (BRSV), *Adenovirus bovino*, *Virus parainfluenza 3* (PI3), *Virus della diarrea virale* (BVDV), *Coronavirus Bovino* (BCV), *Rinovirus*, *Enterovirus*, *Reovirus*;
  - Batteri → *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Haemophilus somnus*, *Mycobacterium bovis*, *Actinomyces pyogenes*, *Streptococcus spp.*, *Actinobacillus actinoides*, *Chlamydia spp.*, *Fusobacterium necrophorum*;
  - Micoplasmi → *Mycoplasma spp.* e *Ureaplasma spp.*;
  - Parassiti polmonari → *Dictyocaulus viviparus*.

### *Patogenesi*

Esiste una sinergia tra infezioni virali e batteriche alla base del complesso della malattia respiratoria bovina: le infezioni virali e la risposta dell'ospite che si aziona nei loro confronti compromettono le difese e facilitano la colonizzazione del tessuto polmonare profondo da parte dei batteri.

Le *Pastorellaceae* sono batteri commensali delle vie respiratorie superiori dei bovini, esse sono normalmente inalate in piccole quantità e facilmente eliminate grazie all'apparato mucociliare tracheale; tuttavia questo meccanismo di difesa, può venire alterato dai fattori ambientali stressogeni. Il rilascio endogeno di ormoni dello stress interagisce con i meccanismi di difesa e clearance dell'apparato respiratorio promuovendo la proliferazione dei microrganismi: la

quantità di muco secreto aumenta, l'attività ciliare, la migrazione dei neutrofili e l'attività fagocitaria dei macrofagi alveolari residenti vengono ridotte.

In aggiunta, il rimescolamento degli animali durante il trasporto e le nuove interazioni sociali nella stalla di arrivo, favoriscono lo scambio di virus respiratori da animali portatori clinicamente sani.

Per cui la BRD deriva dall'alterazione di un equilibrio tra la capacità difensiva dell'ospite e i potenziali fattori patogeni.

Le difese immunitarie dell'animale in risposta all'attacco virale degradano le cellule epiteliali infette e i macrofagi, ma ciò porta ad una maggiore compromissione della clearance, rendendo l'animale estremamente vulnerabile (Hodgins ed al., 2002). Pertanto molti batteri normalmente presenti sulle mucose delle vie respiratorie possono moltiplicarsi, virulentarsi e colonizzare le vie respiratorie più profonde. Per contrastare l'invasione, arrivano nel parenchima polmonare neutrofili e cellule infiammatorie, le quali nello svolgere la loro funzione rilasciano enzimi e altri mediatori dell'infiammazione che possono causare più danni polmonari di quelli dovuti dai microrganismi stessi. Lo stress infiammatorio così causato determina una disfunzione polmonare che si manifesta come ipersecrezione, broncocostrizione, edema alveolare, interstiziale e della mucosa. Nonostante la tachipnea, queste alterazioni impediscono la ventilazione alveolare, la diffusione gassosa alveolo-capillare e inducono la discordanza fra ventilazione e perfusione, che esita in un cattivo scambio gassoso e porta a sua volta ipossiemia e ipercapnia (Lekeux, 2008).

### *Segni e Sintomi*

- Letargia, depressione, ottundimento del sensorio, ipertermia ( $> 40^{\circ}\text{C}$ ), anoressia, disidratazione, diarrea;
- Tosse, tachipnea, rumori respiratori anormali (sibili, rantoli, crepitii), broncospasmo, edema, enfisema, dispnea e cianosi;
- Scolo nasale da sieroso a mucopurulento, scolo oculare;

- Bronchite, polmonite, pleurite, adenomatosi polmonare, fibrosi pleurica (Snowder et al., 2006; Schneider et al., 2009).

### *Diagnosi*

L'identificazione della BRD è frequentemente realizzata con un approccio clinico-epidemiologico-anamnestico: in base ai sintomi, all'età degli animali, all'anamnesi recente e remota dell'allevamento.

Un secondo approccio riguarda la possibilità di eseguire indagini diagnostiche volte alla ricerca dei patogeni: esami batteriologici, virologici, micologici su tamponi oculari, nasali, faringei, lavaggio bronchio-alveolare (BAL, dall'inglese Broncho-Alveolar Lavage), lavaggio tracheale, biopsie polmonari.

Un ultimo approccio di tipo anatomopatologico consiste nell'esecuzione di necropsie e diagnosi di lesioni polmonari macroscopiche (Lacroux, 2008).

### *Gestione e Terapia*

Per la gestione della BRD sono stati studiati diversi approcci con l'obiettivo di limitare il rischio e l'impatto della sua diffusione. Essi si basano principalmente su piani vaccinali riferiti a virus e batteri a tropismo respiratorio, sulla ricerca di nuove molecole antibiotiche e sul "condizionamento" dei gruppi di nuovo arrivo in strutture dedicate (quarantena) (Galmozzi et al., 2009; Sgoifo Rossi et al., 2013). Oltre a ciò la comprensione e la gestione dei fattori di rischio della BRD rappresentano un metodo molto valido per limitare l'impatto negativo sulla mandria e sulla redditività della produzione di carne (Fucci et al., 2012). Emerge da uno studio italiano (Sgoifo Rossi et al., 2013) come peggiori condizioni di allevamento degli animali possano aumentare l'incidenza per BRD (dal 6,5% al 28,4%): densità dei box, igiene degli ambienti, tipologia di abbeveratoi, addestramento del personale al corretto contatto con gli animali e gestione nutrizionale sono importanti fattori di rischio da non sottovalutare.

Pertanto al fine di gestire nel modo migliore l'aspetto sanitario sarebbe conveniente valutare ogni singola partita di bovini ristallati in base all'effettiva

probabilità di insorgenza della patologia, in modo che gli animali vengano trattati e gestiti nel modo più appropriato a seconda della classe di rischio cui appartengono. Tuttavia la valutazione dei rischi risulta essere complessa in quanto non solo l'ambiente di allevamento gioca un ruolo fondamentale nel ridurre o ampliare la malattia, ma anche le caratteristiche soggettive degli animali, tra cui lo stato immunitario, la mancanza di un'anamnesi storica e della possibilità di avere informazioni tempestive sugli aspetti microbiologici di ciascuna epidemia, la rendono difficile. Dunque è necessario avvalersi della clinica, in modo da poter classificare in base a diversi fattori (condizioni di trasporto, peso, sesso, stagione, provenienza, grado di rimescolamento) le partite di ristalli secondo livello di rischio BRD (Sgoifo Rossi et al., 2013).

In base alla classificazione del rischio la gestione farmacologica dell'allevamento può assumere diversi significati. Il farmaco può essere somministrato terapeuticamente, in seguito a conferma eziologica e valutazione della sensibilità microbica nei confronti del principio attivo, ai soggetti che manifestano segni clinici di BRD; in questo modo si previene il decorso clinico-patologico della malattia e si limita la comparsa dei fenomeni di antibiotico-resistenza, pertanto spesso è il metodo preferibile. Tuttavia in alcune circostanze risulta necessario un approccio preventivo con somministrazione di massa, il cui scopo è quello di contenere le cariche microbiche e limitare la morbilità all'interno di gruppi di bovini a forte rischio di contrarre forme patologiche. Il trattamento preventivo può essere distinto ulteriormente in profilattico se riferito a gruppi interi di soggetti in apparenza sani ma considerati ad alto rischio di BRD o metafilattico quando il trattamento è avviato dopo l'insorgenza della patologia in una parte del gruppo, nell'intento di proteggere la restante parte (Galmozzi et al., 2009; Fucci et al., 2012).

Ovviamente una volta che viene avviata una strategia farmacologica per la gestione della BRD, risulta importante la tempestività e l'adeguatezza dell'intervento per una prognosi favorevole ed un rapido recupero delle capacità produttive (Muraro et al., 2008).

Il primo bersaglio della terapia sono gli agenti patogeni: avendo i batteri ruolo chiave nella cascata patologica, la terapia antibiotica risulta lo strumento più efficace per il trattamento della BRD (Smith, 2004). L'interruzione della cascata patologica sarà tanto più rapida quanto più precocemente viene avviato il trattamento antibatterico. La scelta tra i diversi prodotti attualmente in commercio deve tenere conto degli aspetti clinici, della sensibilità dei microrganismi coinvolti, delle caratteristiche farmacocinetiche, delle modalità di somministrazione, dei tempi di sospensione e dei costi (Muraro et al., 2008). Gli antibiotici indicati per il trattamento delle forme polmonari sono quelli che raggiungono una concentrazione terapeutica nel polmone interessato da patologia dopo una somministrazione convenzionale. Questa proprietà è stata dimostrata per macrolidi (tulatromicina, gamitromicina) (Godinho et al., 2005; Galmozzi et al., 2009), fluorochinoloni (danfloxacin, enrofloxacin) (TerHune et al., 2005), fluorfenicoli (Shin et al., 2005), beta-lattamici (penicillina, ceftiofur), tetracicline (ossitettraciclina) e sulfamidici potenziati con trimetoprim (Cusack et al., 2003).

Non ci sono specifici trattamenti per le polmoniti virali. Le polmoniti associate a *Mycoplasma spp.* non rispondono bene ai trattamenti, a causa della localizzazione intracellulare di questo microrganismo. Mentre malattie polmonari parassitarie, rispondono bene a trattamenti a base di ivermectina, moxidectina o benzimidazoli.

Il secondo bersaglio della terapia è l'infiammazione polmonare acuta per cui è consigliata la somministrazione di farmaci antinfiammatori non steroidei (FANS). L'effetto antinfiammatorio risulta sinergico all'azione dell'antibiotico, riducendo l'essudazione, le secrezioni e il danno tissutale. Inoltre gli effetti antipiretico e analgesico migliorano le condizioni generali del soggetto colpito, consentendo una più precoce ripresa delle principali funzioni organiche (Re et al., 2010).

### 2.2.1 Utilizzo dei macrolidi in corso di BRD

Per ridurre o trattare gli episodi di malattia respiratoria bovina sono comunemente usati gli antibiotici macrolidi.

La struttura chimica dei macrolidi è caratterizzata dalla presenza di un grande anello lattonico macrociclico contenente da 12 a 16 termini, al quale è legato uno o più zuccheri. Questi antibiotici sono molto attivi nei confronti dei batteri aerobi gram-positivi (appartenenti alle specie *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Enterococcus* e *Arcanobacterium pyogenes*) rispetto ai gram-negativi, ma alcuni ceppi di *Pasteurella*, *Haemophilus* e *Neisseria spp.* possono essere sensibili. Inoltre sono attivi nei confronti di batteri anaerobi come *Brachyspira*, *Fusobacterium*, *Bacteroides* e *Clostridium spp.* ed altri microrganismi appartenenti alle specie *Mycobacterium*, *Mycoplasma*, *Chlamydia*, *Bordetella*, *Moraxella*, *Spirocheta*. Gamitromicina, tilmicosina e tulatromicina hanno uno spettro d'azione ampio e sono attivi anche nei confronti dei gram-negativi; il loro uso è approvato per il trattamento della malattia respiratoria bovina comunemente associata a *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida* e *Histophilus somni*.

Tutti i macrolidi presentano lo stesso meccanismo di azione: interferiscono con la sintesi proteica legandosi in maniera reversibile al sito 23S rRNA della sub-unità 50S del ribosoma batterico e inibiscono la traslocazione del peptidil-tRNA dal sito A al sito P ribosomiale. Sono considerati batteriostatici, ma ad elevate concentrazioni dimostrano attività battericida.

I macrolidi usati nei bovini sono eritromicina, spiramicina, tildipirosina, tilosina, tilmicosina, gamitromicina e tulatromicina (EMA, 2011; Boothe, 2012).

### **2.2.1.1 Tulatromicina**

La tulatromicina è un antimicrobico macrolide semi-sintetico ad attività batteriostatica e battericida, ottenuto per fermentazione, derivato da una miscela equilibrata composta per il 90% dall'isomero A (anello macrociclico di 15 membri) e per il 10% dall'isomero B (anello macrociclico di 13 membri). Si differenzia da molti altri macrolidi per la sua lunga durata d'azione, dovuta in parte, alla presenza di tre gruppi amminici. Per tale motivo questa molecola è stata inserita nella sottoclasse chimica dei triamilidi.

Il farmaco è commercializzato dalla ditta Zoetis Belgium SA con il nome commerciale di Draxxin®. E' una soluzione per iniezioni pronta all'uso, multi-dose, sterile, contenente 100 mg/ml di tulatromicina come principio attivo e 5 mg/ml di monotioglicerolo, glicole propilenico, acido citrico, acido cloridrico, idrossido di sodio e acqua per preparazioni iniettabili come eccipienti.

La tulatromicina è un farmaco non disponibile per la medicina umana, è stato sviluppato solo per usi veterinari. La molecola è chimicamente correlata all'azitromicina, un macrolide ampiamente utilizzato nel trattamento delle infezioni umane e considerato il composto parente della tulatromicina.

#### *Farmacodinamica*

I gruppi amminici polari conferiscono alla tulatromicina caratteristiche fisico-chimiche tali da poter alterare l'equilibrio degli ioni magnesio che stabilizzano il layer lipopolisaccaridico esterno, incrementando così la capacità di penetrazione all'interno della cellula batterica (Muraro et al., 2008). Il macrolide, una volta all'interno del batterio, agisce legandosi in maniera selettiva e reversibile con la sub-unità 50S ribosomiale, stimolando la dissociazione del peptidil-tRNA dal ribosoma durante il processo di traslocazione ed inibendo la biosintesi delle proteine essenziali, lo sviluppo e la proliferazione batterica.

A parte un modesto disturbo a livello gastrointestinale (emesi, diarrea) e un leggero aumento degli enzimi epatici (ALT, AST, SDH), la tulatromicina non sembra esercitare attività farmacologica secondaria sugli organi importanti del

sistema (cuore, rene, encefalo). Tuttavia non vi sono sufficienti dati disponibili sulla farmacodinamica tali da individuare un range di reazioni avverse occasionali come quelle riportate in umani trattati a dosi terapeutiche con antibiotici macrolidi correlati (cardiotossicità, sordità).

### *Farmacocinetica*

Nel bovino il profilo farmacocinetico della tulatromicina somministrata alla dose raccomandata di 2,5 mg/kg peso vivo (p.v.) è caratterizzato da un assorbimento rapido ed elevato nel sito di inoculo ( $T_{max} < 1$  ora), con biodisponibilità dopo somministrazione sottocutanea di circa 90%. La distribuzione è elevata (Volume apparente di distribuzione  $> 10$  l/kg), l'eliminazione lenta (emivita plasmatica  $> 70$  ore) e il legame con le proteine plasmatiche è basso, circa 40%.

La concentrazione plasmatica massima ( $C_{max}$ ), di circa 0,5 µg/ml, è raggiunta entro circa 30 minuti dalla somministrazione ( $T_{max}$ ).

La biodisponibilità della tulatromicina nel tessuto target terapeutico, il polmone, è ampia: la concentrazione è notevolmente superiore rispetto a quella plasmatica; il picco raggiunto dopo una singola somministrazione alla dose raccomandata corrisponde a 4,1 µg/g ed è raggiunto entro 24 ore dalla somministrazione; l'emivita polmonare eccezionalmente lunga è di circa 8 giorni.

La concentrazione polmonare nell'animale rimane al di sopra del valore  $MIC_{90}$  (dall'inglese Minimal Inhibitory Concentration, concentrazione minima inibitoria) per *Mannheimia haemolytica* (2,0 µg/ml) e *Pasteurella multocida* (1,0 µg/ml) per approssimativamente 9 e 15 giorni rispettivamente.

Il metabolismo epatico è limitato, l'eliminazione della molecola è relativamente lenta, ma completa: circa il 70% del farmaco viene eliminato entro 47 giorni dalla somministrazione equamente divisa fra urine e feci.

## *Microbiologia*

La tulatromicina è un antibiotico ad ampio spettro altamente efficace contro tutti i maggiori patogeni batterici gram-negativi e gram-positivi che sono comunemente associati alla malattia respiratoria bovina: *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Histophilus somni* e *Mycoplasma bovis*, con valori MIC<sub>90</sub> *in vitro* di 1-4 µg/ml per i batteri respiratori isolati in bovini in Europa (Godinho, 2008) e USA (Evans, 2005). Tuttavia ci sono delle popolazioni resistenti di *Mycoplasma bovis*, circa il 30% di quelle isolate, che mostrano valori di MIC<sub>90</sub> superiori a 64 µg/ml (Godinho et al., 2005), ma la tulatromicina, che si accumula ampiamente nelle cellule infiammatorie (neutrofili e macrofagi), esibisce un'attività antimicrobica anche nei confronti di microrganismi intracellulari (Villarino et al., 2013) indipendentemente dalla MIC del ceppo (Godinho et al., 2005). Infatti è da ritenersi un antibiotico idoneo nei confronti di *M. bovis*, il quale sta assumendo sempre più importanza nei focolai di BRD: i rilievi diagnostici suggeriscono una prevalenza elevata in tutta Europa (Vangeel et al., 2011) ed in Italia, come mostrato dallo studio Luini et al. (2006), il 67% dei campioni di animali colpiti da BRD è risultato positivo alla presenza di *M. bovis*.

La tulatromicina ha dimostrato un'elevata efficacia: diversi studi condotti sul campo negli Stati Uniti ed in diversi paesi Europei hanno evidenziato maggiori effetti della tulatromicina rispetto al florfenicolo e alla tilmicosina sia nel trattamento che nella prevenzione della BRD (Rooney et al., 2005; Wellman e O'Connor, 2007). In aggiunta, in uno studio condotto in Italia (Muraro et al., 2008), è stata dimostrata una migliore performance produttiva degli animali trattati con tulatromicina rispetto a quelli trattati con tilmicosina.

Il macrolide possiede inoltre una attività *in vitro* nei confronti di *Moraxella bovis*, il batterio patogeno più comunemente associato alla cheratocongiuntivite infettiva bovina (IBK, dall'inglese Infectious Bovine Keratoconjunctivitis). Oltre ad essere l'unico antibiotico registrato per la cheratocongiuntivite, offre diversi vantaggi: la somministrazione del prodotto è unica per via parenterale quindi

preferita ai trattamenti locali; inoltre l'antibiotico si concentra nel liquido lacrimale mantenendo in esso una concentrazione inibente sufficientemente elevata nel tempo, quindi abbassando il rischio di recidiva (Lane et al., 2006; Schiavon et al., 2010).

Negli USA la tulatromicina è stata approvata per il trattamento della necrobacillosi interdigitale associata a *Fusobacterium necrophorum* e *Porphyromonas levii* (Villarino et al., 2013).

Alcuni batteri possono diventare resistenti alla tulatromicina con conseguente diminuzione dell'efficacia. La resistenza ai macrolidi può essere cromosomica o plasmidica e può essere trasferibile solo se associata a transposoni o plasmidi. La resistenza può svilupparsi per: mutazione dei geni che regolano il processo di codificazione dell'RNA ribosomiale (rRNA) o di alcune proteine ribosomiche, modificazione enzimatica del sito bersaglio dell'rRNA dando luogo in genere ad una resistenza crociata con lincosamidi e streptogramine del gruppo B (resistenza MLSB), inattivazione enzimatica ed efflusso del macrolide.

#### *Controindicazioni ed Effetti avversi*

Sono stati condotti numerosi studi sugli effetti avversi della molecola, la tulatromicina non dimostra effetti neurotossici, genotossici, carcinogenetici né teratogeni. Eventuale tossicità fetale o materna può svilupparsi solo in caso di elevate dose di farmaco somministrata oralmente, pertanto è possibile la somministrazione in bovine gravide.

Sono stati individuati residui in reni, fegato e grasso per cui sono stati definiti gli MRL (dall'inglese Maximum Residue Limit, limite massimo di residui) dai quali è stato calcolato il tempo di sospensione che corrisponde a 49 giorni. Gli MRL per il latte non sono stati calcolati, pertanto la tulatromicina non va utilizzata negli animali che producono latte per il consumo umano.

Nella tabella che segue (tabella 1) sono riportati i valori di MRL calcolati per i diversi tessuti.

**Tabella 1.** Valori MRL ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) calcolati per bovini per differenti tessuti.

<b>SPECIE</b>	<b>MRL (<math>\mu\text{g}/\text{kg}</math>)</b>	<b>ORGANO</b>
Bovino	100	Grasso
	3000	Fegato
	3000	Rene

Tratto da EMA, 2003. Draxxin: EPAR - Scientific Discussion.

La somministrazione sottocutanea nel bovino causa frequentemente reazioni dolorose transitorie e gonfiore nel punto di inoculo che possono persistere fino a 30 giorni. In caso di sovradosaggio sono possibili sintomi transitori tra cui lieve dolorabilità nel sito di inoculo, irrequietezza, inappetenza, scuotimento della testa. Ad una dose 5-6 volte superiore alla dose raccomandata è stata osservata una leggera degenerazione miocardica (EMA, 2003; EMA, 2013; EMEA, 2002).

## **OBIETTIVO DELLA TESI**

I bovini da ristallo sottoposti a condizioni stressanti a causa dei cambiamenti ambientali, gestionali, alimentari e sociali, possono subire un'alterazione dello stato di salute. Le principali conseguenze sanitarie che caratterizzano il periodo di condizionamento sono le patologie dell'apparato respiratorio e per contrastarle, oltre che ridurre la durata e l'entità dei fattori stressanti, possono essere utilizzati trattamenti farmacologici. In base alla gestione aziendale possono essere somministrati antibiotici solo per il trattamento dei casi clinici o può venire estesa la somministrazione al gruppo di nuovo arrivo o parte di esso, utilizzando una strategia di prevenzione.

L'obiettivo del lavoro sarà quello di valutare le performance ruminanti in animali che vengono sottoposti a differente gestione sanitaria (animali trattati e animali non trattati con tultromicina) per il controllo della malattia respiratoria bovina al momento del ristallo.

## MATERIALI E METODI

### 3. Azienda e animali oggetto di studio

La prova è stata condotta nell'allevamento di bovini da carne della Società Agricola Vio Antonio sito nel comune di Eraclea (VE). Sono stati selezionati 102 bovini maschi di razza Charolaise di peso di circa 400 kg, inclusi nella prova al momento del ristallo dalla Francia.

Al fine di evitare ulteriori effetti diversi dall'obiettivo specifico della prova, tutti gli animali sono stati stabulati nelle medesime condizioni e hanno ricevuto la stessa gestione alimentare. In tabella 2 e 3 sono riportati rispettivamente gli ingredienti della razione e la corrispondente composizione chimica.

**Tabella 2.** Razione somministrata a tutti gli animali oggetto di studio.

INGREDIENTI	S.S. %	T.Q. KG
Silomais 32.29 medio	32,28	10,00
Frumento paglia	89,50	1,00
1606 MAXI BEEF 35/5 CONV CERT DP	89,74	1,30
Mais past. integrale 62%	60,24	2,20
Barbabietola polpe sec. pel.	90,33	1,00
Mais farina fine 64%	87,33	1,20
Semola glutinata	89,00	1,00
Soia farina estr. 42%	89,31	0,30

**Tabella 3.** Composizione chimica della razione somministrata a tutti gli animali oggetto di studio.

COMPONENTE	UM	SS
Umidità	%	45,98
Sostanza Secca	%	54,02
Proteina Grezza	%	13,86
Fibra Grezza	%	17,19
Amidi	%	29,17
Estratto Etereo	%	3,29
Foraggio	%	27,46
Concentrato	%	72,54

Tutti i bovini sono stati inoltre sottoposti al trattamento con vaccino polivalente (CATTLEMASTER®4) per la prevenzione nei confronti dei virus della rinotracheite infettiva bovina (IBR), della parainfluenza tipo 3 (PI3), della diarrea virale bovina (BVD-MD) e dal virus respiratorio sinciziale bovino (BRSV). Il trattamento è stato ripetuto a 16 giorni dall'arrivo ed in aggiunta è stato applicato un antiparassitario ad ampio spettro (0,5 mg/kg p.v. pour on, CYDECTIN®).

Per quanto concerne la prova, i 102 animali sono stati casualmente divisi in due gruppi: il primo gruppo composto da 51 animali è stato oggetto di un'unica somministrazione sottocutanea di tulatromicina (2,5 mg/kg p.v., DRAXXIN®); il secondo gruppo composto da 51 animali non ha subito il trattamento al momento del ristallo e pertanto ha rappresentato il gruppo controllo. Tuttavia a quest'ultimo gruppo non è stato precluso il trattamento con tulatromicina: gli animali ad elevato rischio di sviluppo di BRD o con sintomatologia in atto hanno ricevuto la somministrazione dopo attenta valutazione clinica.

In seguito, i due gruppi di animali sono stati monitorati in tre diversi momenti: il giorno dopo il trattamento (T1), a 8 giorni dal trattamento (T8) e a 15 giorni dall'inizio del trattamento (T15). Contestualmente gli animali appartenenti ai due

gruppi sono stati divisi in altri tre sottogruppi ciascuno, così da poter essere testati una sola volta nell'arco del periodo di prova. Ad ogni intervento sono stati testati 17 animali appartenenti al gruppo dei trattati e 17 animali appartenenti al gruppo controllo, per un totale di 34 animali per ciascun periodo.

#### **4. Prelievo del liquido ruminale**

Ad ogni singolo animale è stato prelevato un campione di liquido ruminale mediante metodica di ruminocentesi come descritto da Nordlund e Garrett (1994) e successivamente modificata da Gianesella et al. (2010). E' stata scelta tale procedura in quanto è la tecnica che fornisce i risultati più accurati (Garrett et al., 1999; Duffield et al., 2004; Morgante et al., 2007).

La raccolta dei campioni di liquido ruminale è sempre stata effettuata tra le 4 e le 7 ore successive alla somministrazione della razione, in quanto in tale fascia il pH ruminale raggiunge il picco di acidità (Morgante et al., 2007).

Per effettuare tale procedura gli animali sono stati immobilizzati grazie alla presenza di un sistema formato da una lunga corsia di movimentazione e gabbia contenitiva con autocattura. Il punto di reperi per la centesi si trova sul lato sinistro dell'animale, 15-20 cm caudo-ventralmente alla giunzione costo-condrale dell'ultima costa, all'altezza dell'articolazione del ginocchio (Nordlund e Garrett, 1994). Questa area di grandezza 20 x 20 cm è stata sottoposta a tricotomia e disinfezione con triplice passaggio alternato di betadine ed alcool. Una volta preparata l'area di centesi un operatore posto sul fianco sinistro dell'animale esegue una leggera pressione a pugno chiuso vicino al sito di prelievo, mentre con l'altra mano appoggia alla cute un ago sterile di lunghezza 105 mm e del diametro di 13 G (Intranule PP, Vygon, Francia). Contemporaneamente all'inserimento, la pressione deve essere gradualmente rilasciata, in modo che l'animale percepisca meno l'ingresso dell'ago. Una volta passato il sottocute, si attende il rilasciamento del sacco ventrale del rumine e cessata la contrazione si spinge l'ago attraverso la parete ruminale, se correttamente introdotto dovrebbero uscire alcune gocce di liquido ruminale. A

questo punto è applicata una siringa monouso da 60 ml precedentemente caricata con una certa quantità di aria, utile nell'eventualità che l'ago sia occluso da particelle di alimento, e si procede alternando aspirazioni ed eventuali iniezioni d'aria fino ad arrivare a raccogliere circa 10-15 ml di liquido ruminale. Terminato il prelievo la siringa viene rimossa, l'ago sfilato delicatamente e l'area di centesi disinfettata.

Particolare attenzione va posta al disegno vascolare superficiale, in quanto si potrebbero provocare delle emorragie durante il prelievo tali da alcalinizzare il campione.

Il liquido raccolto è stato quindi suddiviso in due aliquote, di cui 2 ml per l'immediata determinazione in campo del pH ruminale e 8 ml per le successive analisi in laboratorio degli AGV.



*Foto n. 1: corsia di movimentazione*



*Foto n. 2: autocattura*



*Foto n. 3: disinfezione area di centesi*



*Foto n. 4: ruminocentesi*

#### 4.1 Determinazione del pH ruminale in campo

Il liquido ruminale una volta prelevato è stato sottoposto immediatamente alla determinazione del pH. Operazione importante da eseguire il prima possibile, in modo da evitare che a contatto con la CO<sub>2</sub> atmosferica gli AGV evaporino e il campione si alcalinizzi. Circa 2 ml di liquido ruminale sono stati inseriti in una provetta apposta in cui a sua volta è stato introdotto l'elettrodo del pHmetro portatile (Zetalab PC70, XSinstruments), il quale fornisce su display digitale il valore del pH in pochi secondi. Dopo ogni misurazione la sonda del pHmetro e la provetta sono state risciacquate accuratamente con acqua distillata. Lo strumento è stato tarato prima del suo utilizzo con due soluzioni a pH noto (4,01 e 7,01) come indicato da Nordlund e Garrett (1994) e da Enemark et al. (2004).

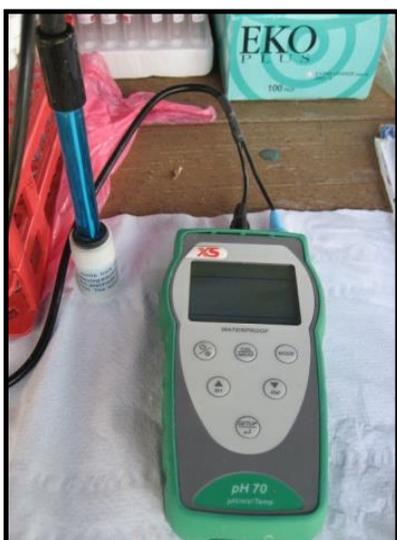


Foto n.5: pHmetro portatile digitale



Foto n.6: misurazione del pH con elettrodo

#### 4.2 Determinazione degli AGV in laboratorio

Circa 8 ml di liquido ruminale prelevato è stato trasferito in provette da 10 ml, precedentemente preparate con 2 ml di acido cloridrico (HCl 0,6 M) necessario alla conservazione degli acidi grassi volatili. I campioni sono stati inizialmente refrigerati a +4°C ed in seguito congelati a -20°C all'arrivo in laboratorio, in

attesa della fine dei prelievi, per consentire di compiere un'unica analisi di questi campioni.

La determinazione quantitativa degli acidi grassi volatili è stata condotta per via gascromatografica mediante metodo HPLC (dall'inglese High Performance Liquid Chromatography o High Pressure Liquid Chromatography).

Gli acidi grassi volatili determinati sono stati: acido acetico, acido propionico, acido iso-butyrico, acido n-butyrico, acido iso-valerianico e acido n-valerianico.

Lo strumento che effettua questa analisi è un gas-cromatografo 8000 Serie Top della ditta Thermo Quest Italia (Rodano, Milano), dotato di detector a ionizzazione di fiamma (FID), supporto per colonne capillari, sistema di iniezione Split-Splitless dotato di liner a percorso tortuoso e forno programmabile.

## **5. Rilevazione pesi degli animali**

Gli animali sono stati pesati singolarmente al momento dell'arrivo in allevamento, in corrispondenza del giorno prima dell'inizio della prova (T0) e sono stati nuovamente pesati il giorno seguente l'avvenuta conclusione della prova (T16).

## **6. Analisi statistica**

I risultati ottenuti sono stati sottoposti ad analisi statistica attraverso l'uso del software SIGMA STAT 3.07 mediante l'analisi della varianza (ANOVA) utilizzando la procedura "GLM" al fine di valutare l'effetto del trattamento sul pH ruminale e sui singoli acidi grassi volatili. Infine sono stati calcolati i coefficienti di correlazione di Pearson tra tutti i parametri determinati.

## **RISULTATI E DISCUSSIONE**

Innanzitutto va sottolineato come grazie alla presenza in allevamento di un sistema di contenimento per gli animali, composto da lungo corridoio e gabbia con autocattura, le operazioni di prelievo di liquido ruminale si siano rivelate semplici e rapide nell'esecuzione e non si siano evidenziati particolari problematiche. Inoltre gli animali non hanno riportato problemi connessi al prelievo tali da influenzare la prova o compromettere lo stato di salute degli stessi.

A causa della frequenza con cui si manifesta la BRD negli allevamenti bovini da ingrasso, sono comunemente utilizzati trattamenti antibiotici di massa all'arrivo in allevamento o alla comparsa dei primi sintomi respiratori. Tuttavia lo studio Galyean et al. (1995) ha dimostrato che trattamenti selettivi all'arrivo, basati sul rilievo della temperatura corporea, forniscono livelli di controllo equivalenti ai trattamenti di massa. Pertanto per il gruppo controllo si è scelto di evitare il trattamento di massa al momento del ristallo, agli animali è stato somministrato il farmaco solo dopo attenta valutazione clinica: in caso i bovini fossero stati a rischio di incorrere nella BRD o già con sintomatologia in atto. Questo approccio sanitario spesso è preferito perché con un uso razionale e controllato degli antibiotici non solo si evitano trattamenti inutili riducendo i costi aziendali, ma si limitano i fenomeni di resistenza/adattamento dei microrganismi ai principi attivi.

I primi dati disponibili sono stati i pH ruminali individuali ottenuti direttamente in azienda attraverso la misurazione del liquido ruminale. Nella tabella 4 vengono riportati i valori di pH ruminale di ciascun animale.

**Tabella 4.** Valori di pH ruminale divisi per gruppo (trattato e controllo) e periodo di prelievo (T1, T8, T15).

PH RUMINALE						
	T1		T8		T15	
	Trattati	Controllo	Trattati	Controllo	Trattati	Controllo
1	6,00	6,16	6,21	5,74	5,88	5,78
2	5,70	6,23	6,65	6,14	5,30	6,31
3	6,59	6,32	6,35	5,62	6,65	6,53
4	5,86	6,07	5,95	5,88	5,70	6,28
5	5,74	5,81	6,56	5,10	5,85	6,15
6	5,76	6,61	6,05	5,87	6,38	6,26
7	5,50	4,61	6,43	6,22	5,94	6,04
8	5,56	5,50	6,49	6,94	6,11	5,64
9	5,86	5,69	5,98	5,45	5,34	6,12
10	5,56	5,51	5,58	5,58	5,51	6,00
11	5,66	5,43	5,92	5,66	5,43	5,88
12	5,79	5,67	6,06	6,40	5,92	5,57
13	5,54	5,60	5,54	5,66	6,28	6,01
14	6,19	6,57	5,93	6,14	5,65	5,88
15	6,09	6,08	5,37	6,04	5,81	5,92
16	5,73	5,64	5,27	6,28	5,78	6,06
17	5,70	5,56	6,03	5,40	5,78	5,56

Nella tabella che segue (tabella 5) viene riportata l'analisi descrittiva di tutti i parametri ruminali oggetto di studio, indipendentemente dai gruppi (controllo e trattato) e dai periodi (T1, T8, T15).

**Tabella 5.** Statistica descrittiva dei parametri ruminali oggetti di studio indipendentemente dai gruppi (controllo e trattato) e dai periodi di prelievo (T1, T8, T15).

PARAMETRI	MEDIA	DEV. STA.	MASSIMA	MINIMA	MEDIANA
PH ruminale	5,90	0,38	6,94	4,61	5,88
Ac. Acetico (mg/ml)	2,98	0,47	4,41	1,75	2,91
Ac. Propionico (mg/ml)	1,37	0,36	2,54	0,61	1,31
Ac. iso-Butirrico (mg/ml)	0,06	0,05	0,22	0,00	0,04
Ac. n-Butirrico (mg/ml)	0,93	0,27	1,70	0,22	0,92
Ac. iso-Valerianico (mg/ml)	0,09	0,06	0,33	0,01	0,09
Ac. n-Valerianico (mg/ml)	0,11	0,06	0,31	0,00	0,11
AGV totali (mg/ml)	5,54	0,85	7,72	3,16	5,57
Ac. Acetico(%)	53,97	5,02	71,36	43,13	53,99
Ac. Propionico (%)	24,61	4,40	41,14	15,60	23,56
Ac. iso-Butirrico (%)	1,11	1,02	4,93	0,00	0,71
Ac. n-Butirrico (%)	16,77	3,85	29,11	6,41	16,42
Ac. iso-Valerianico (%)	1,67	1,03	6,02	0,22	1,47
Ac. n-Valerianico (%)	1,87	0,96	5,59	0,00	1,99

Osservando la tabella 5 si può notare come la media totale di pH ruminale degli animali nella prima fase di condizionamento sia di 5,90, ovvero rientri nei limiti fisiologici che oscillano tra 5,8 e 6,7 (Kolver e De Veth, 2002). Tuttavia sono stati riscontrati valori decisamente inferiori rispetto alla soglia di normalità, in particolare con alcuni valori inferiori al 5,5 nel gruppo di animali controllo.

L'andamento degli AGV è simile a quanto evidenziato in altri lavori, in particolare svolti sulla bovina da latte (Gianesella et al., 2012). Tuttavia va sottolineato che per determinati AGV esiste un'estrema variabilità individuale: particolare attenzione merita l'acido n-valerianico che in certi animali arriva a valori di 0,31 mg/ml, quando in bibliografia viene riportato essere presente in tracce (Morgante et al., 2007).

Nella tabella che segue (tabella 6) vengono riportate le medie ( $\pm$  SEM) dei parametri ruminali suddivisi per gruppo (controllo e trattato) e periodo (T1, T8, T15).

**Tabella 6.** Valori medi ( $\pm$  SEM) degli acidi grassi volatili e del pH ruminale divisi per gruppo (controllo e trattato) e per periodo (T1, T8, T15).

<b>AGV RUMINALI (mg/ml) – PH RUMINALE</b>						
	<b>T1</b>		<b>T8</b>		<b>T15</b>	
	<b>Controllo</b>	<b>Trattato</b>	<b>Controllo</b>	<b>Trattato</b>	<b>Controllo</b>	<b>Trattato</b>
PH ruminale	5,83 $\pm$ 0,09	5,81 $\pm$ 0,09	5,89 $\pm$ 0,09 <b>A</b>	6,02 $\pm$ 0,09 <b>B</b>	5,94 $\pm$ 0,09	5,96 $\pm$ 0,09
Ac. Acetico	3,19 $\pm$ 0,11	3,01 $\pm$ 0,11	3,18 $\pm$ 0,11 <b>A</b>	2,86 $\pm$ 0,11 <b>B</b>	2,76 $\pm$ 0,11	2,80 $\pm$ 0,11
Ac. Propionico	1,37 $\pm$ 0,09	1,22 $\pm$ 0,09	1,45 $\pm$ 0,09 <b>A</b>	1,24 $\pm$ 0,09 <b>B</b>	1,54 $\pm$ 0,09	1,40 $\pm$ 0,09
Ac. iso-Butirrico	0,07 $\pm$ 0,01	0,04 $\pm$ 0,01	0,04 $\pm$ 0,01	0,05 $\pm$ 0,01	0,11 $\pm$ 0,01 <b>A</b>	0,05 $\pm$ 0,01 <b>B</b>
Ac. n-Butirrico	0,93 $\pm$ 0,06	0,78 $\pm$ 0,06	0,96 $\pm$ 0,06	0,84 $\pm$ 0,06	1,05 $\pm$ 0,06	1,04 $\pm$ 0,06
Ac. iso-Valerianico	0,07 $\pm$ 0,01	0,04 $\pm$ 0,01	0,12 $\pm$ 0,01	0,09 $\pm$ 0,01	0,14 $\pm$ 0,01 <b>A</b>	0,09 $\pm$ 0,01 <b>B</b>
Ac. n-Valerianico	0,10 $\pm$ 0,01	0,09 $\pm$ 0,01	0,06 $\pm$ 0,01 <b>A</b>	0,04 $\pm$ 0,01 <b>B</b>	0,11 $\pm$ 0,01 <b>A</b>	0,08 $\pm$ 0,01 <b>B</b>
AGV totali	5,64 $\pm$ 0,20	5,37 $\pm$ 0,20	5,84 $\pm$ 0,20 <b>A</b>	5,13 $\pm$ 0,20 <b>B</b>	5,68 $\pm$ 0,20	5,60 $\pm$ 0,20
C2/C3	2,38 $\pm$ 0,02	2,40 $\pm$ 0,02	2,23 $\pm$ 0,02 <b>A</b>	2,47 $\pm$ 0,02 <b>B</b>	2,13 $\pm$ 0,02	2,24 $\pm$ 0,02

*Lettere diverse (A, B) sulla stessa riga indicano differenze statisticamente significative ( $P < 0,05$ ) all'interno dello stesso periodo fra i due gruppi.*

Osservando gli andamenti si può notare come il pH ruminale a giorno T1 risulti analogo tra i 2 gruppi di animali (5,83 nel gruppo controllo vs 5,81 nel gruppo trattato), mentre al giorno T8 tale valore risulti differente statisticamente ( $P < 0,05$ ) tra i 2 gruppi, in particolare con un valore decisamente innalzato rispetto al T1 nel gruppo oggetto di trattamento (5,89 nel gruppo controllo vs 6,02 nel gruppo trattato), per poi tornare ad essere simile al giorno T15 (5,94 nel gruppo controllo vs 5,96 nel gruppo trattato).

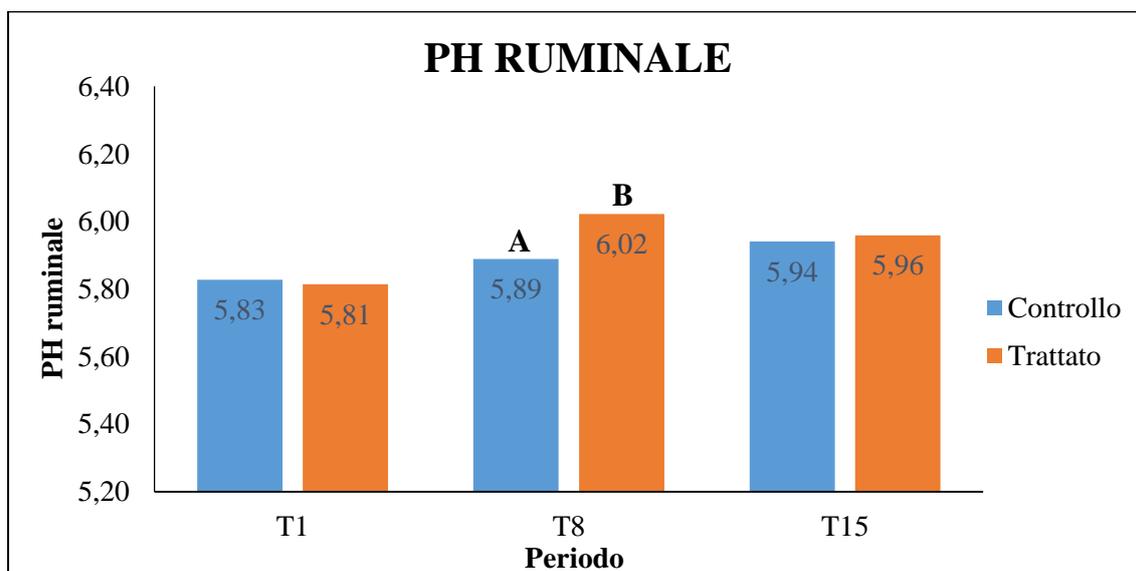
Per quanto concerne gli AGV, a T1 non si riscontrano particolari differenze tra i 2 gruppi, mentre a T8 si riscontrano nuovamente differenze tra i 2 gruppi pressoché per tutti gli AGV, ovvero con valori assoluti costantemente più alti negli animali controllo e con differenze statisticamente significative per quanto

concerne l'acido acetico, l'acido propionico, l'acido n-valerianico e gli acidi grassi volatili totali. A T15 tale tendenza rimane pressoché costante, tuttavia la significatività tra i 2 gruppi non si evidenzia per il pH né per gli AGV totali, mentre si concretizza per l'acido iso-butyrico, l'acido iso-valerianico e l'acido n-valerianico.

Il rapporto tra le percentuali di acido acetico ed acido propionico risulta significativo a T8, in linea con la situazione del pH ruminale.

Sulla base dei risultati dell'analisi della varianza vengono riportati i grafici (da grafico 1 a grafico 9) dei parametri ruminali suddivisi per gruppo (controllo e trattato) e periodo (T1, T8, T15) con le relative significatività.

**Grafico 1.** Valori medi di pH ruminale divisi per gruppo (controllo e trattato) e per periodo di prelievo (T1, T8, T15).

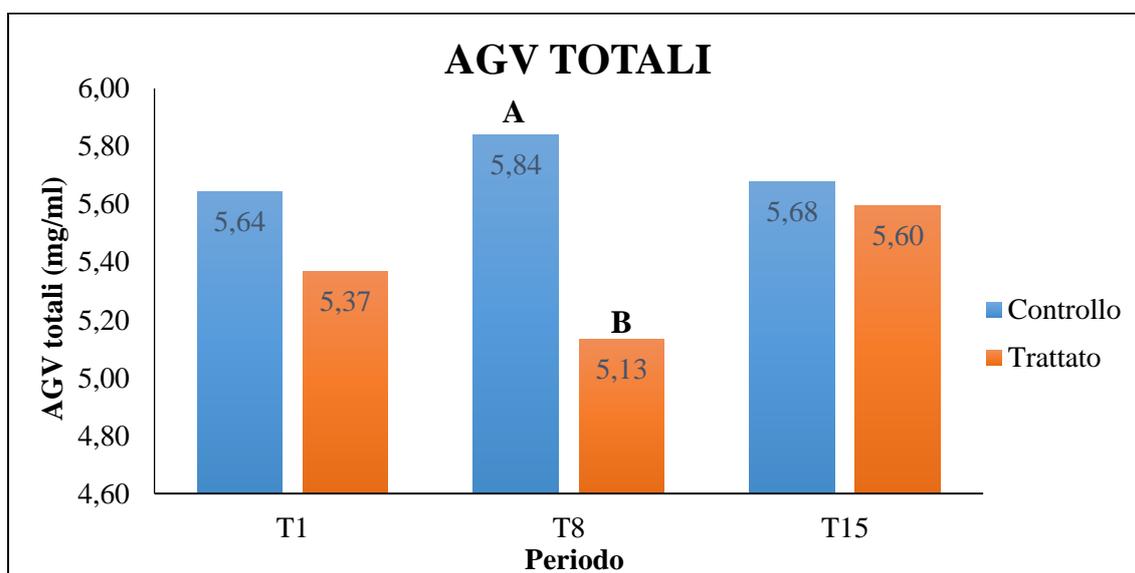


*Lettere diverse (A, B) all'interno dello stesso periodo indicano differenze statisticamente significative ( $P < 0,05$ ) fra i due gruppi.*

Andando ad osservare il grafico 1, come evidenziato in precedenza, si può notare come la media di pH del gruppo controllo nel primo periodo, ovvero il giorno dopo la somministrazione della tulatromicina (T1), presenti una media

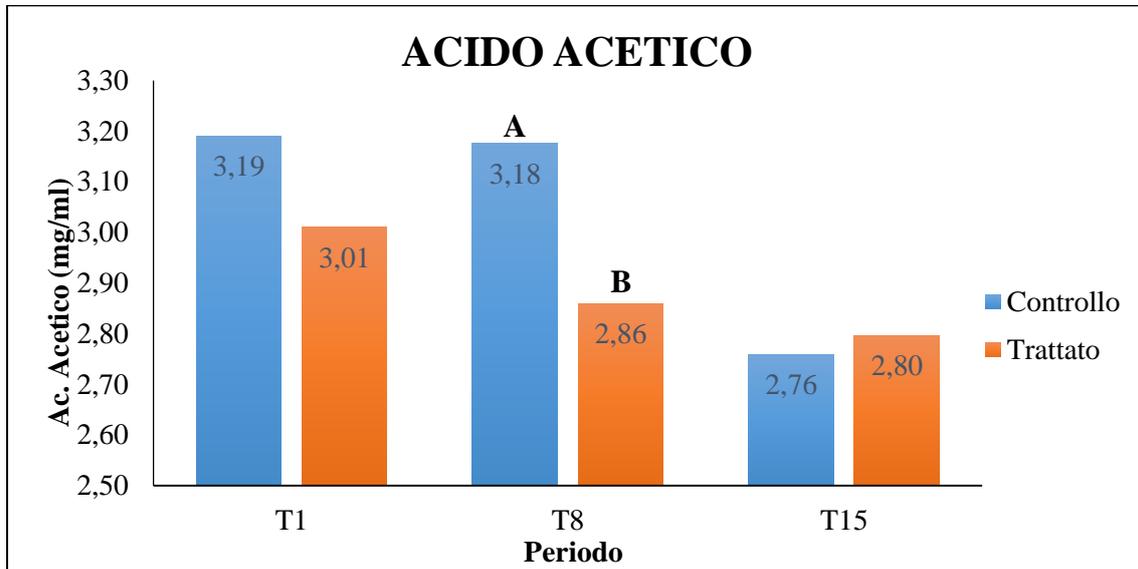
lievemente maggiore (5,83 vs 5,81) del gruppo trattato. I valori di pH ruminale in questa prima fase di condizionamento sembra possano risentire delle condizioni di movimentazione precedenti l'arrivo in azienda, in quanto gli animali sottoposti a condizioni stressanti presentano una drastica riduzione delle funzionalità ruminali (Compiani et al., 2013). Le medie dei pH dopo 8 giorni dal trattamento si diversificano, il gruppo dei trattati presenta un pH più elevato rispetto al controllo, raggiungendo la media di 6,02; i due gruppi a T8 presentano una differenza statisticamente significativa ( $P < 0,05$ ). Nel terzo periodo, a 15 giorni dal trattamento, le medie di pH ruminale tornano ad essere simili, ma il gruppo dei trattati mantiene un pH leggermente maggiore rispetto al controllo (5,96 vs 5,94). Data la differenza tra le medie di pH ruminale all'ottavo giorno di prova, con il gruppo dei trattati che presenta un pH ottimale, è presumibile che il trattamento abbia la capacità di modulare il metabolismo ruminale in positivo con effetto maggiore a 8 giorni dal trattamento.

**Grafico 2.** Valori medi degli acidi grassi volatili totali divisi per gruppo (controllo e trattato) e per periodo di prelievo (T1, T8, T15).



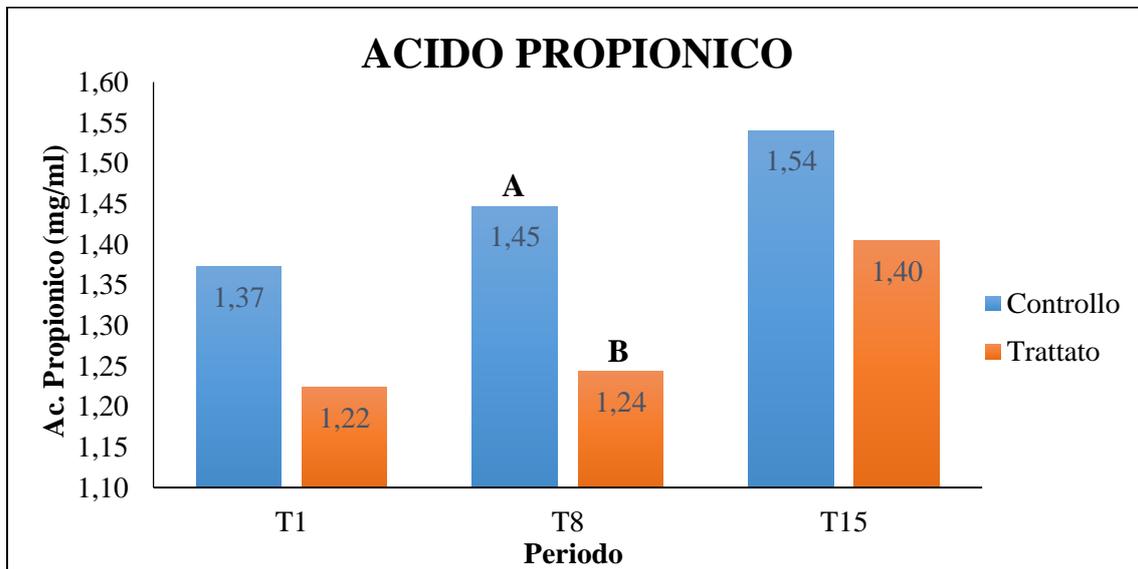
*Lettere diverse (A, B) all'interno dello stesso periodo indicano differenze statisticamente significative ( $P < 0,05$ ) fra i due gruppi.*

**Grafico 3.** Valori medi di acido acetico divisi per gruppo (controllo e trattato) e per periodo di prelievo (T1, T8, T15).



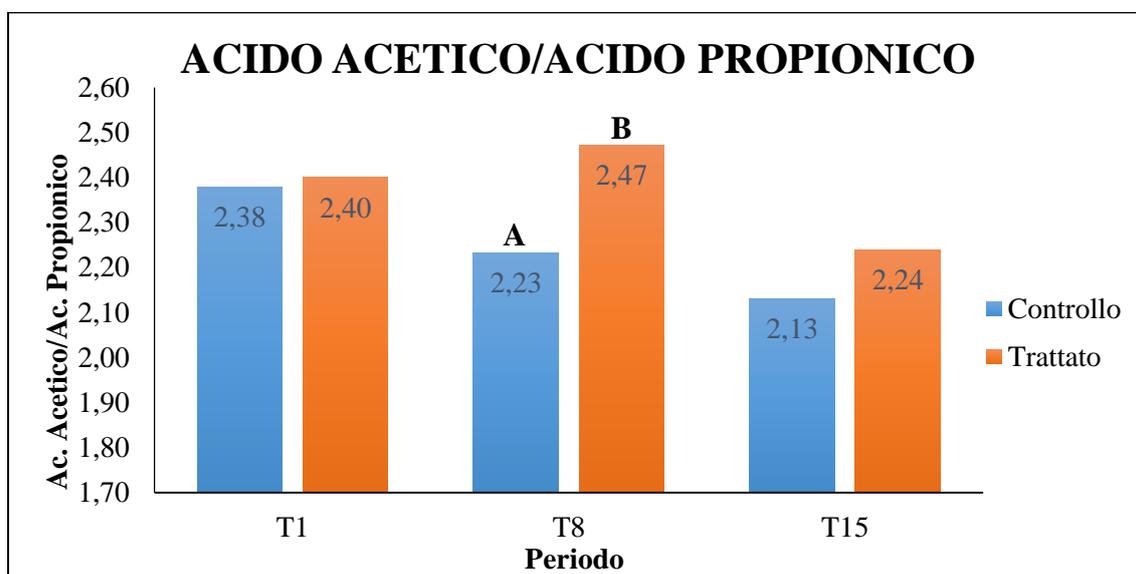
Lettere diverse (**A**, **B**) all'interno dello stesso periodo indicano differenze statisticamente significative ( $P < 0,05$ ) fra i due gruppi.

**Grafico 4.** Valori medi di acido propionico divisi per gruppo (controllo e trattato) e per periodo di prelievo (T1, T8, T15).



Lettere diverse (**A**, **B**) all'interno dello stesso periodo indicano differenze statisticamente significative ( $P < 0,05$ ) fra i due gruppi.

**Grafico 5.** Valori medi del rapporto acido acetico/acido propionico divisi per gruppo (controllo e trattato) e per periodo di prelievo (T1, T8, T15).



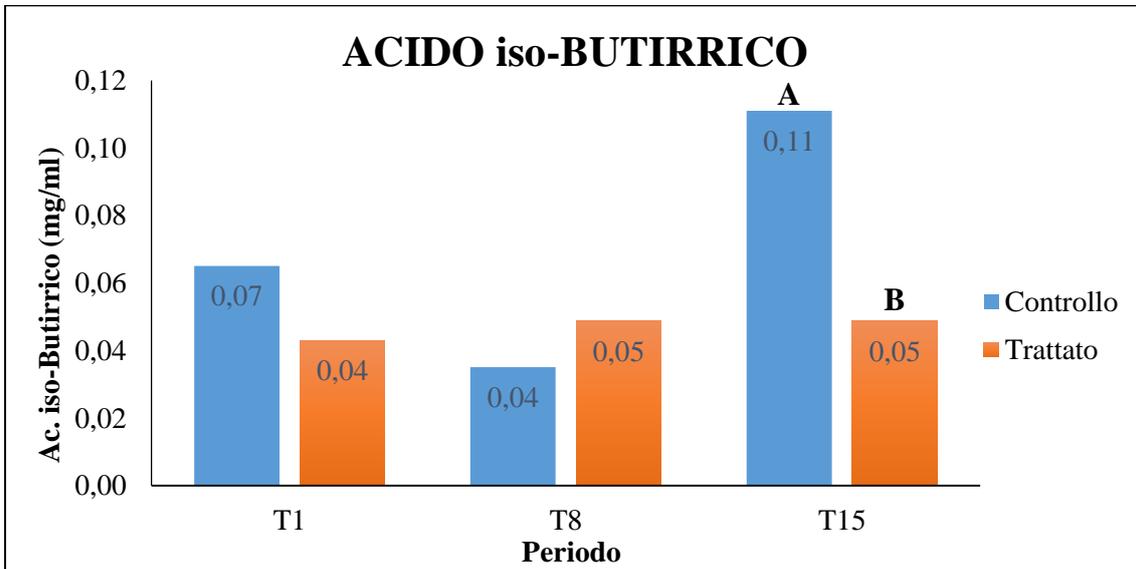
Lettere diverse (**A**, **B**) all'interno dello stesso periodo indicano differenze statisticamente significative ( $P < 0,05$ ) fra i due gruppi.

Analizzando il grafico 2 si può notare come la media di AGV totali degli animali appartenenti al gruppo controllo rimanga per tutto il periodo della prova a valori maggiori rispetto al gruppo dei trattati. Si rileva una differenza statisticamente significativa tra i dati al periodo T8, con valori decisamente più alti nel gruppo degli animali controllo (5,84 vs 5,13). La produzione di grandi quantità di AGV deriva dalla somministrazione di una razione ricca di carboidrati facilmente fermentescibili che favorisce un'elevata attività fermentativa. Gli animali della nostra prova hanno ricevuto la medesima gestione alimentare, pertanto è ipotizzabile un effetto del trattamento sull'attività ruminale, dove realisticamente il principio attivo porta ad una modulazione delle popolazioni batteriche (maggior crescita di batteri cellulolitici a discapito degli amilolitici e dei batteri lattici produttori) con conseguente minor accumulo di AGV a livello ruminale. I grafici dell'andamento dell'acido acetico (grafico 3) e del propionico (grafico 4) confermano quanto sopraindicato. In particolare già il giorno successivo al trattamento (T1) il gruppo trattato presenta un valore medio assoluto di acido

acetico e acido propionico minore rispetto al gruppo controllo; ancora più rilevante (e significativa) risulta tale differenza a 8 giorni dal trattamento (T8), mentre a 15 giorni dal trattamento la differenza tra i due gruppi tende a ridursi.

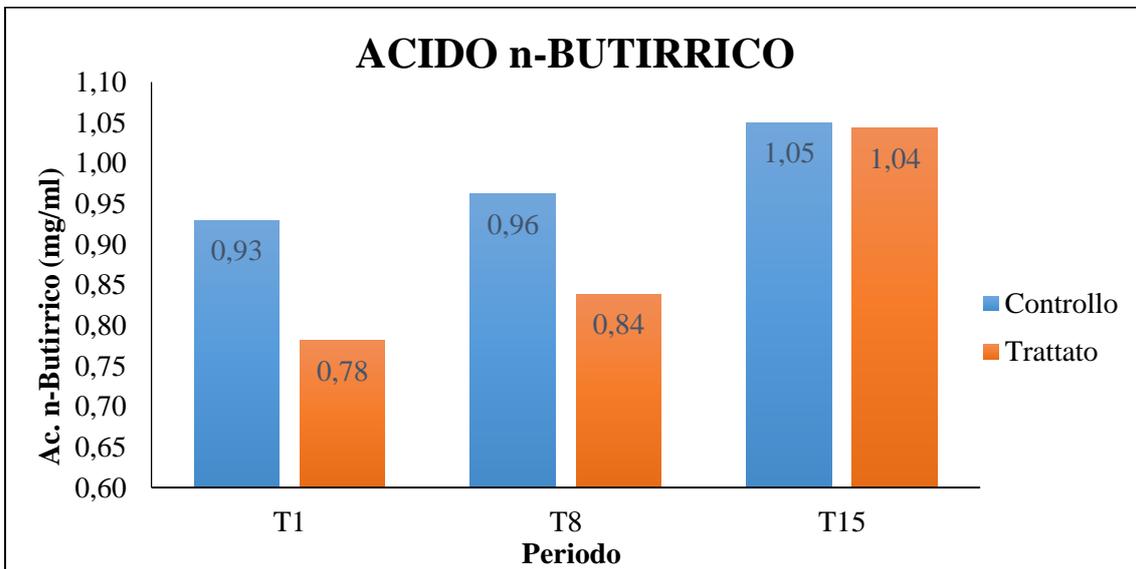
L'evidenza che il trattamento abbia un effetto sulla modulazione delle fermentazioni ruminali la si può confermare osservando i valori percentuali degli AGV, in particolare andando a rilevare il rapporto tra la percentuale di acido acetico e di acido propionico, tecnicamente indicato come rapporto C2/C3 o più grossolanamente indicato come "rapporto foraggi/concentrati", proprio in relazione alla prevalenza di una o dell'altra popolazione batterica in funzione della tipologia di dieta. Infatti, con un'alimentazione ricca di foraggi, l'acido acetico (C2) rappresenta circa il 65-75% degli AGV mentre il propionico (C3) rappresenta il 15-20%, con un rapporto tra i due di 3-3,5. Se invece l'alimentazione è ricca di fonti amidacee questo rapporto scende anche a 2 con l'acetico al 55-60% degli AGV e il propionico al 30-35%. Nel grafico 5 si riscontra una situazione che si avvicina al secondo caso con medie che presentano un range fra 2,13 e 2,47; in particolare l'andamento dei valori del rapporto C2/C3 per entrambi i gruppi è analogo a T1 e a T15, mentre risulta statisticamente differente a T8, con un rapporto a favore dell'acetico nel gruppo di animali trattati. Risulta evidente pertanto come l'andamento del pH, degli AGV totali e del rapporto acido acetico/acido propionico risulti speculare in tutti i periodi oggetto di studio.

**Grafico 6.** Valori medi di acido iso-butirrico divisi per gruppo (controllo e trattato) e per periodo di prelievo (T1, T8, T15).

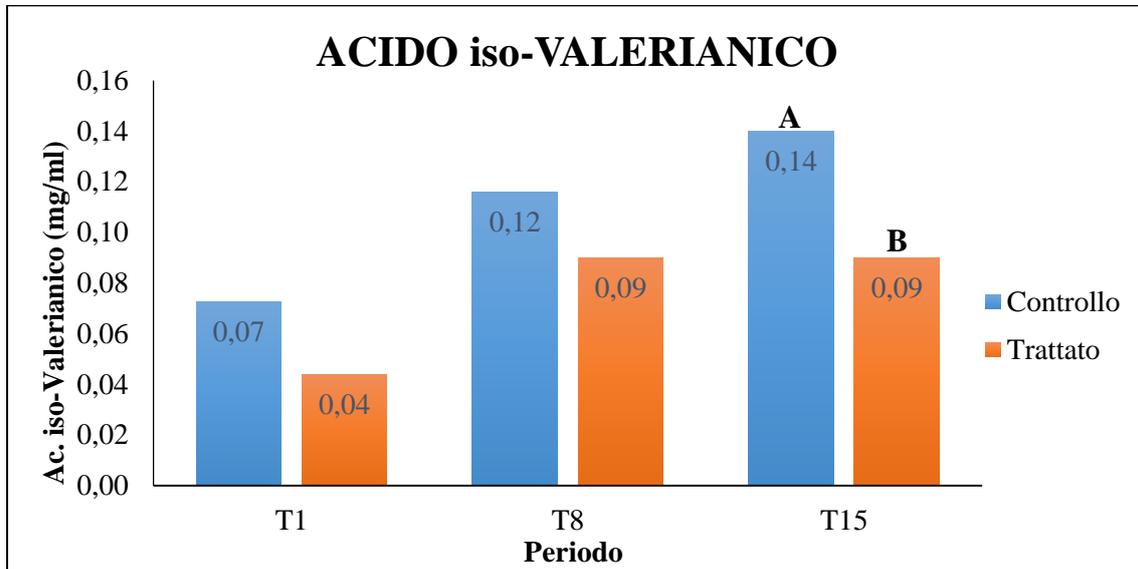


Lettere diverse (**A**, **B**) all'interno dello stesso periodo indicano differenze statisticamente significative ( $P < 0,05$ ) fra i due gruppi.

**Grafico 7.** Valori medi di acido n-butirrico divisi per gruppo (controllo e trattato) e per periodo di prelievo (T1, T8, T15).

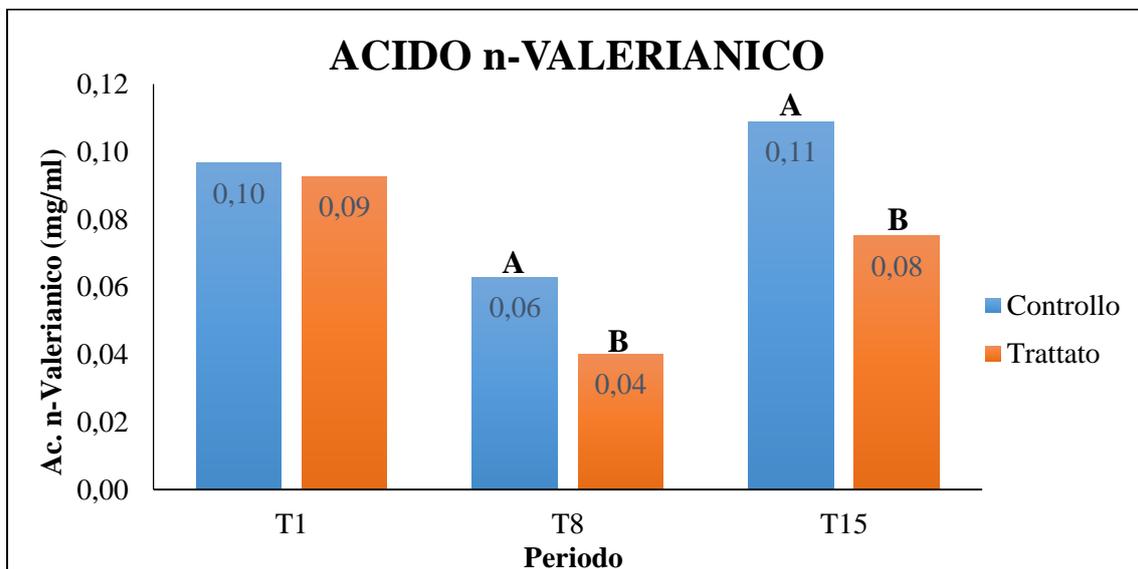


**Grafico 8.** Valori medi di acido iso-valerianico divisi per gruppo (controllo e trattato) e per periodo di prelievo (T1, T8, T15).



Lettere diverse (**A**, **B**) all'interno dello stesso periodo indicano differenze statisticamente significative ( $P < 0,05$ ) fra i due gruppi.

**Grafico 9.** Valori medi di acido n-valerianico divisi per gruppo (controllo e trattato) e per periodo di prelievo (T1, T8, T15).



Lettere diverse (**A**, **B**) all'interno dello stesso periodo indicano differenze statisticamente significative ( $P < 0,05$ ) fra i due gruppi.

I grafici 6 e 7 mostrano i valori medi assoluti di acido iso-butirrico e acido n-butirrico divisi per periodi di prova e gruppo di animali. Mentre nei primi due controlli non si evidenziano particolari differenze tra i 2 gruppi (tuttavia tendenzialmente con valori assoluti maggiori nel gruppo controllo), a 15 giorni dal trattamento i valori medi dell'acido iso-butirrico presentano una differenza statisticamente significativa ( $P < 0,05$ ), in cui il gruppo controllo presenta un valore maggiore rispetto al gruppo trattato (0,11 vs 0,05).

I grafici 8 e 9 mostrano i valori medi assoluti di acido iso-valerianico e acido n-valerianico divisi per periodi di prova e gruppo di animali. Anche in questo caso, per entrambe le isoforme, i valori del gruppo controllo si mostrano maggiori rispetto ai valori del gruppo trattato per tutta la durata della prova con una differenza che risulta particolarmente significativa a 8 e 15 giorni dal trattamento. In aggiunta, l'acido n-valerianico, sostanza tossica derivata dal catabolismo delle proteine, è presente nel gruppo degli animali controllo a 15 giorni dal trattamento con un valore medio di 0,11 mg/ml. Tale risultato è elevato rispetto alle evidenze scientifiche che lo riportano essere presente solamente in tracce nella bovina da latte (Morgante et al., 2007): ciò induce a valutare la possibilità di effettuare ulteriori studi relativamente al catabolismo di tale AGV e all'eventuale effetto sullo stato di salute dell'animale.

Come indicato nel capitolo materiali e metodi tutti gli animali sono stati pesati all'inizio (T0) ed alla fine della prova (T16).

A T0 la media dei pesi del gruppo trattato è di  $431,3 \pm 3,39$  kg e quella del gruppo controllo di  $436,8 \pm 3,48$  kg. A T16 il gruppo trattato presenta una media di peso pari a  $467,9 \pm 4,26$  kg mentre il gruppo controllo  $464,8 \pm 3,95$  kg. Calcolando quindi l'incremento di peso si può notare come i trattati abbiano avuto un incremento medio di 8,6 kg in più rispetto al gruppo controllo. Tale evidenza è giustificata dall'effetto benefico del trattamento sull'insorgenza e la gestione del complesso delle patologie respiratorie, come per altro indicato in uno studio precedente (Stanton et al., 2010); l'incremento ponderale potrebbe

essere ulteriormente accentuato dalla migliore modulazione delle fermentazioni ruminanti negli animali oggetto del trattamento stesso, come per altro largamente dimostrato dai valori di pH e degli AGV precedentemente riportati.

Nella tabella a seguire (tabella 7) vengono riportate le medie di peso ( $\pm$  SEM) degli animali divisi per gruppo (controllo e trattato) e per giorno di rilievo della misurazione (T0, T16), con le relative differenze ( $\Delta$ ) tra i due periodi.

**Tabella 7.** Medie di peso ( $\pm$  SEM) espresse in kg divise per gruppo (controllo e trattato) e per periodo (T0, T16) con relativo  $\Delta$ .

	T0	T16	$\Delta$
Controllo	436,8 $\pm$ 3,48	464,8 $\pm$ 3,95	28,0 $\pm$ 5,26
Trattato	431,3 $\pm$ 3,39	467,9 $\pm$ 4,26	36,6 $\pm$ 5,44

## CONCLUSIONE

A seguito di un approccio sanitario differente nei confronti della gestione delle patologie respiratorie del vitellone da carne al momento del ristallo, la prova conferma la presenza di notevoli differenze delle performance ruminali tra i due gruppi oggetto di studio. Il gruppo degli animali trattati ha dimostrato di essere soggetto ad un'attività di modulazione delle fermentazione ruminali da parte della tulatromicina, confermata da valori di pH ruminale, superiori a quelli del gruppo controllo in particolare ad 8 giorni dal trattamento, e dai valori degli AGV, per cui si è rilevato come l'azione si prolunghi fino a 15 giorni successivi alla somministrazione. Ulteriore conferma dell'effetto benefico della molecola sul rumine è data dal rapporto acido acetico/acido propionico che per tutta la durata della prova rimane maggiore nel gruppo trattato. Inoltre è stato evidenziato come ci sia una differenza di 8,6 kg di incremento medio di peso negli animali trattati rispetto al gruppo controllo.

Poiché rilevanze cliniche di campo hanno sottolineato come la tulatromicina possa portare ad una migliore risposta in termini di stato di salute, benessere e performance produttive degli animali nella prima fase di accrescimento, si potrebbero proporre studi successivi estendendo il campione ad un numero maggiore di animali ed accompagnandolo a indagini diagnostiche collaterali, come ad esempio la valutazione delle popolazioni batteriche a livello ruminale. Ciò potrebbe consentire, con l'aggiuntivo supporto scientifico, un approfondimento sugli ulteriori vantaggi nell'uso di questo trattamento.

## BIBLIOGRAFIA

Annison F., Bramley E., Browning G., Cusack P., Farquharson B., Lean I.J., Little S., Nandapi D., 2007. Ruminant acidosis - understandings, prevention and treatment. A review for veterinarians and nutritional professionals. *feed.FIBRE.future* pp. 4-48.

Araujo D.B., Cooke R.F., Hansen G.R., Staples C.R., Arthington J.D., 2010. Effects of rumen-protected polyunsaturated fatty acid supplementation on performance and physiological responses of growing cattle after transportation and feedlot entry. *Journal of Animal Science* **88**(12): 4120-4132.

Avellini G., 1998. Aspetti eziopatogenetici e clinici dell'acidosi ruminale nella bovina da latte. Atti della Società Italiana di Buiatria Vol. XXX.

Bach A., Calsamiglia S., Stern M.D., 2005. Nitrogen metabolism in the rumen. *Journal of Dairy Science* **88**(Suppl.1): E9-E21.

Bannink A., Kogut J., Dijkstra J., France J., Kebreab E., Van Vuuren A.M., Tamminga S., 2006. Estimation of the stoichiometry of volatile fatty acid production in the rumen of lactating cows. *Journal of Theoretical Biology* **238**(1): 36-51.

Bannink A., France J., Lopez S., Gerrits W.J.J., Kebreab E., Tamminga S., Dijkstra J., 2008. Modelling the implications of feeding strategy on rumen fermentation and functioning of the rumen wall. *Animal Feed Science and Technology* **143**(1-4): 3-26.

Boothe D.M., 2010. Macrolides. In *The Merck Veterinary Manual*, Tenth Edition, ed. C.M. Kahn, S. Line. Whitehouse Station, N.J. (USA): Merck & Co. (Last update 2012).

Compiani R., Baldi G., Sgoifo Rossi C.A., 2013. Bovini da carne - alimentazione, i nuovi trend. *Informatore Zootecnico* **10**: 44-48.

Cooke R.F., Bohnert D.W., Moriel P., Hess B.W., Mills R.R., 2011. Effects of polyunsaturated fatty acid supplementation on ruminal in situ forage degradability, performance, and physiological responses of feeder cattle. *Journal of Animal Science* **89**(11): 3677-3689.

Cooke R.F., 2014. Impatto dello stress e dello status immunitario sulla salute e sui parametri di rendimento dei bovini da carne. Atti del 16° Congresso Internazionale SIVAR, p. 17, Cremona, Italia, 7-9 Maggio.

Cusack P.M.V., McMeniman N., Lean I.J., 2003. The medicine and epidemiology of bovine respiratory disease in feedlots. *Australian Veterinary Journal* **81**(8): 480-487.

Dell'Orto V., Sgoifo Rossi C.A., Savoini G., Cheli F., Bassini A.L., 2005. Tecniche di allevamento del bovino per una carne di qualità. *Quaderni della ricerca* N. 50.

De Nardi R., Marchesini G., Stefani A.L., Barberio A., Andrighetto I., Segato S., 2014. Effect of feeding fine maize particles on the reticular pH, milk yield and composition of dairy cows. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* **98**(3): 504-510.

Dijkstra J., Ellis J.L., Kebreab E., Strathe A.B., López S., France J., Bannink A., 2012. Ruminant pH regulation and nutritional consequences of low pH. *Animal Feed Science and Technology* **172**(1-2): 22-33.

Ding G., Chang Y., Zhao L., Zhou Z., Ren L., Meng Q., 2014. Effect of *Saccharomyces cerevisiae* on alfalfa nutrient degradation characteristics and rumen microbial populations of steers fed diets with different concentrate-to-forage ratios. *Journal of Animal Science and Biotechnology* **5**(1): 24.

Drackley J.K., 2000. Lipid metabolism. In *Farm Animal Metabolism and Nutrition*, First Edition, ed. J.P.F. D'Mello, pp. 100-102. Wallingford (UK): CABI Publishing.

Duffield T., Plaizier J.C., Fairfield A., Bagg R., Vessie G., Dick P., Wilson J., Aramini J., McBride B., 2004. Comparison of techniques for measurement of rumen pH in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* **87**(1): 59-66.

Earley B., 2014. La funzione immunitaria nel bovino: fisiopatologia e diagnosi delle sue alterazioni. Atti del 16° Congresso Internazionale SIVAR, pp. 23-24, Cremona, Italia, 7-9 Maggio.

Ellis J.A., 2001. The immunology of the bovine respiratory disease complex. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* **17**(3): 535-550.

EMA, 2003. European Medicines Agency. Draxxin: EPAR - scientific discussion. CVMP/0968/03. (Last update 2010).

EMA, 2011. European Medicines Agency. Reflection paper on the use of macrolides, lincosamides and streptogramins (MLS) in food-producing animals in the European Union: development of resistance and impact on human and animal health. EMA/CVMP/SAGAM/741087/2009.

EMA, 2013. European Medicines Agency. Draxxin: EPAR summary for the public. EMA/499041/2007 EMEA/C/V/000077.

EMA, 2002. European Medicines Agency - Veterinary Medicines and Inspections. Committee for veterinary medicinal products: tulathromycin - summary report. EMEA/MRL/842/02-FINAL.

Enemark J.M.D., Jørgensen R.J., Enemark P.S., 2002. Rumen acidosis with special emphasis on diagnostic aspects of subclinical rumen acidosis: a review. *Veterinary Zootechnie* **20**(42): 16-29.

Enemark J.M.D., Jørgensen R.J., Kristensen N.B., 2004. An evaluation of parameters for the detection of subclinical rumen acidosis in dairy herds. *Veterinary Research Communications* **28**(8): 687-709.

Enemark J.M.D., 2008. The monitoring, prevention and treatment of sub-acute ruminal acidosis (SARA): a review. *The Veterinary Journal* **176**(1): 32-43.

Evans N.A., 2005. Tulathromycin: an overview of a new triamilide antibiotic for livestock respiratory disease. *Veterinary Therapeutics* **6**(2): 83-95.

Fucci D., Compiani R., Baldi G., Sgoifo Rossi C.A., 2012. Incidenza di problematiche respiratorie e performance di crescita di bovini da ristallo ad alto rischio BRD sottoposti a trattamento anti-infettivo d'arrivo. *Large Animal Review* **18**(4): 171-175.

Gay E., Barnouin J., 2009. A nation-wide epidemiological study of acute bovine respiratory disease in France. *Preventive Veterinary Medicine* **89**(3-4): 265-271.

Galyean M.L., Gunter S.A., Malcolm-Callis K.J., 1995. Effects of arrival medication with tilmicosin phosphate on health and performance of newly received beef cattle. *Journal of Animal Science* **73**(5): 1219-1226.

Galmozzi G., Muraro M., Vandoni S., Bonfanti M., Faccini S., Rosignoli C., Sgoifo Rossi C.A., 2009. Schemi di intervento nelle forme respiratorie dei bovini da ristallo. *Large Animal Review* **15**(6): 257-266.

Garrett E.F., Pereira M.N., Nordlund K.V., Armentano L.E., Goodger W.J., Oetzel G.R., 1999. Diagnostic methods for the detection of subacute ruminal acidosis in dairy cows. *Journal of Dairy Science* **82**(6): 1170-1178.

Garry F., McConnel C., 2014. Ruminal alkalosis. In *Large Animal Internal Medicine, Fifth Edition*, ed. B.P. Smith, p.788. St. Louis, (Missouri): Mosby.

Gianesella M., Morgante M., Stelletta C., Ravarotto L., Giudice E., Van Saun R.J., 2010. Evaluating the effect of ruminocentesis on health and performance in dairy cows. *Acta Veterinaria Brno* **79**(3): 459-468.

Gianesella M., Piccione G., Cannizzo C., Casella S., Morgante M., 2012. Influence of temperature and humidity on rumen pH and fatty acids in dairy cows. *Journal of Environmental Biology* **33**(6): 1093-1096.

Godinho K.S., Rea A., Windsor G.D., Tilt N., Rowan T.G., Sunderland S.J., 2005. Efficacy of tulathromycin in the treatment of bovine respiratory disease associated with induced *Mycoplasma bovis* infections in young dairy calves. *Veterinary Therapeutics* **6**(2): 96-112.

Godinho K.S., 2008. Susceptibility testing of tulathromycin: interpretative breakpoints and susceptibility of field isolates. *Veterinary Microbiology* **129**(3-4): 426-432.

Hodgins D.C., Conlon J.A., Shewen P.E., 2002. Respiratory viruses and bacteria in cattle. In *Polymicrobial Diseases*, First Edition, ed. K.A. Brogden, J.M. Guthmiller. Washington (DC): ASM Press.

Kleen J.L., Cannizzo C., 2012. Incidence, prevalence and impact of SARA in dairy herds. *Animal Feed Science and Technology* **172**(1-2): 4-8.

Kolver E.S., De Veth M.J., 2002. Prediction of ruminal pH from pasture-based diets. *Journal of Dairy Science* **85**(5): 1255-1266.

Krause K.M., Oetzel G.R., 2005. Inducing subacute ruminal acidosis in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* **88**(10): 3633-3639.

Krause K.M., Oetzel G.R., 2006. Understanding and preventing subacute ruminal acidosis in dairy herds: a review. *Animal Feed Science and Technology* **126**: 215-236.

Lacroux C., 2008. Pathology of respiratory disease. Proceedings of the Concepts in the prevention of bovine respiratory disease, p. 7, Rome, Italy, 9-10 June.

Lane V.M., George L.W., Cleaver D.M., 2006. Efficacy of tulathromycin for treatment of cattle with acute ocular *Moraxella bovis* infections. *Journal of the American Veterinary Medical Association* **229**(4): 557-561.

Lekeux P., 2008. The Bovine Respiratory Disease Complex. Proceedings of the Concepts in the prevention of bovine respiratory disease, p.4, Rome, Italy, 9-10 June.

- Luini M., Gualdi V., Maietti L., Vezzoli F., La Malfa C., Radaelli E., Soriolo A., Alberton A., Fin M., Rodeghiero M., 2006. Mycoplasma bovis in bovini da carne con patologia respiratoria. *Large Animal Review* **12**(6): 11-15.
- McAllister T., 2000. Learning more about rumen bugs: genetic and environmental factors affecting rumen bugs. *Southern Alberta Beef Review* **2**(1).
- Morgante M., Stelletta C., Berzaghi P., Giancesella M., Andrighetto I., 2007. Subacute rumen acidosis in lactating cows: an investigation in intensive Italian dairy herds. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* **91**(5-6): 226-234.
- Muraro M., Solari Basano F., Nazzari R., Franzini G., 2008. Efficacia della tulatromicina nella prevenzione delle forme respiratorie del bovino (BRD) da ingrasso in Italia. *Large Animal Review* **14**: 267-272.
- Nagaraja T.G., Titgemeyer E.C., 2007. Ruminant acidosis in beef cattle: the current microbiological and nutritional outlook. *Journal of Dairy Science* **90**(Suppl. 1): E17-E38.
- Nickell J.S., White B.J., 2010. Metaphylactic antimicrobial therapy for bovine respiratory disease in stocker and feedlot cattle. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* **26**(2): 285-301.
- Nocek J.E., 1997. Bovine acidosis: implications on laminitis. *Journal of Dairy Science* **80**(5): 1005-1028.
- Nordlund K.V., Garrett E.F., 1994. Rumenocentesis: a technique for collecting rumen fluid for the diagnosis of subacute rumen acidosis in dairy herds. *Bovine Practitioner* **28**: 109-112.
- Nordlund K.V., Garrett E.F., Oetzel G.R., 1995. Herd-based rumenocentesis: a clinical approach to the diagnosis of subacute rumen acidosis. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian* **17**(8): S48-S56.
- Oetzel G.R., 2000. Clinical aspects of ruminal acidosis in dairy cattle. Proceedings of the 33<sup>rd</sup> Annual convention of the American association of bovine practitioner, pp. 46-53, Rapid City, South Dakota, 21-23 September.
- Owens F.N., Secrist D.S., Hill W.J., Gill D.R., 1998. Acidosis in cattle: a review. *Journal of Animal Science* **76**(1): 275-286.

- Plaizier J.C., Krause D.O., Gozho G.N., McBride B.W., 2008. Subacute ruminal acidosis in dairy cows: the physiological causes, incidence and consequences. *The Veterinary Journal* **176**(1): 21-31.
- Re G., Miciletta M., Barbero R., 2010. Farmacologia dei FANS ed implicazioni cliniche nel bovino da carne. *Large Animal Review* **16**: 49-52.
- Rooney K.A., Nutsch R.G., Skogerboe T.L., Weigel D.J., Gajewski K., Kilgore W.R., 2005. Efficacy of tulathromycin compared with tilmicosin and florfenicol for the control of respiratory disease in cattle at high risk of developing bovine respiratory disease. *Veterinary Therapeutics* **6**(2): 154-166.
- Schiavon E., Emarcora M., Morassi R., Soriolo A., Piva R., Bregoli M., 2010. Efficacia della tulatromicina in un episodio di cheratocongiuntivite infettiva bovina. *Large Animal Review* **16**: 163-165.
- Schneider M.J., Tait R.G.Jr., Busby W.D., Reecy J.M., 2009. An evaluation of bovine respiratory disease complex in feedlot cattle: impact on performance and carcass traits using treatment records and lung lesion scores. *Journal of Animal Science* **87**(5): 1821-1827.
- Sgoifo Rossi C.A., Galmozzi G., Vandoni S., Innocenti M., Pozzi S., Bonfanti M., Dell'Orto V., 2008. Gestire i fattori che influenzano la salute dei bovini da carne. *L'informatore Agrario* **48**: 2-6.
- Sgoifo Rossi C.A., Heba T., Vandoni S.L., 2009. Dossier alimentazione bovini da carne - Allevare "con precisione", un must anche nella nutrizione. *Informatore Zootecnico* **21**: 32-41.
- Sgoifo Rossi C.A., Compiani R., Baldi G., Bonfanti M., 2013. Individuazione e valutazione dei fattori di rischio per la BRD nel bovino da carne da ristallo. *Large Animal Review* **19**: 65-72.
- Shin S.J., Kang S.G., Nabin R., Kang M.L., Yoo H.S., 2005. Evaluation of the antimicrobial activity of florfenicol against bacteria isolated from bovine and porcine respiratory disease. *Veterinary Microbiology* **106**(1-2): 73-77.
- Smith R.A., 2004. Feedlot diseases and their control. Proceedings of the 23<sup>rd</sup> World Buiatrics Congress, Quebec City, Canada, 11-16 July.
- Snowder G.D., Van Vleck L.D., Cundiff L.V., Bennet G.L., 2006. Bovine respiratory disease in feedlot cattle: enviromental, genetic, and economic factors. *Journal of Animal Science* **84**(8): 1999-2008.

Stanton A.L., Kelton D.F., LeBlanc S.J., Millman S.T., Wormuth J., Dingwell R.T., Leslie K.E., 2010. The effect of treatment with long-acting antibiotic at postweaning movement on respiratory disease and on growth in commercial dairy calves. *Journal of Dairy Science* **93**(2): 574-581.

TerHune T.N., Skogerboe T.L., Shostrom V.K., Weigel D.J., 2005. Comparison of pharmacokinetics of danofloxacin and enrofloxacin in calves challenged with *Mannheimia haemolytica*. *American Journal of Veterinary Research* **66**(2): 342-349.

Vangeel I., Toni F., Raue R., Nanjiani I.A., 2011. Presence of *Mycoplasma bovis* in bovine respiratory disease (BRD) outbreaks in European cattle. *Cattle Practice* **19**(1): 48-49.

Villarino N., Brown S.A., Martín-Jiménez T., 2013. The role of the macrolide tulathromycin in veterinary medicine. *The Veterinary Journal* **198**(2): 352-357.

Wellman N.G., O'Connor A.M., 2007. Meta-analysis of treatment of cattle with bovine respiratory disease with tulathromycin. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* **30**(3): 234-241.