

3^a Relazione Semestrale sul progetto

Impiego di un omogeneizzato di aloe nel periparto di bovine da latte: effetti su performance, condizioni metaboliche e benessere animale” “ALBO” (ID 67)

Ente Finanziatore MiPAAF SAQ X Uff. Agr. Biol. /o / COSVIR IV Uff. Ricerca

Responsabile Scientifico: Dr Erminio Trevisi

Nel corso del terzo ed ultimo semestre di attività il gruppo di ricerca che coordino ha completato le attività previste dal protocollo sperimentale finanziato. Le due Unità Operative (UO) del progetto - Istituto di Zootecnica (UO1) ed Istituto di Chimica Agraria ed Ambientale (UO2) dell'Università Cattolica del S. Cuore - hanno operato in stretto collegamento tra loro nell'ottica di valutare l'efficacia del trattamento nutraceutico, costituito da un omogeneizzato di *Aloe arborescens*, in bovine da latte nel periparto. L'attività svolta nel 3° semestre di progetto ha curato i seguenti aspetti:

- i. Completamento della sperimentazione su bovine da latte con somministrazione di omogeneizzato di aloe nella fase del periparto*
- ii. Controlli sui vitelli nati dalle bovine alimentate o meno con l'omogeneizzato di aloe*
- iii. Determinazioni analitiche*

Sperimentazione su bovine da latte con somministrazione di omogeneizzato di aloe nella fase di periparto (WP3)

La sperimentazione con somministrazione dell'omogeneizzato di *Aloe arborescens* alle bovine nel periparto è iniziata al termine del primo semestre ed è stata eseguita presso l'allevamento bovino del Centro di Saggio CERZOO di proprietà dell'Università Cattolica del S. Cuore, che si caratterizza per avere condizioni di allevamento, alimentazione e gestione rappresentative delle procedure operative tipiche italiane coniugate ad una elevata standardizzazione e controllo delle procedure. Nel 3° semestre è stata completata la sperimentazione sulle bovine da latte. Nel complesso sono stati seguiti 36 soggetti (rispetto ai 30 previsti), così ripartiti:

12 bovine hanno ricevuto 100 g/capo/d di omogeneizzato di aloe (tesi A1)

12 bovine hanno ricevuto 200 g/capo/d di omogeneizzato di aloe (tesi A2)

12 bovine sono servite da controllo (CTR) e non hanno ricevuto alcun supplemento alimentare.

L'aloè è stata somministrata come omogeneizzato di foglie di *Aloe arborescens* decongelato al momento dell'uso. Tale preparato è stato scelto per la sua facile preparazione, conservabilità (stabilità all'ossidazione ed alla degradazione microbica ed enzimatica) e praticità di somministrazione agli animali.

Le bovine utilizzate nella prova sono state selezionate per avere 3 gruppi omogenei per età, numero lattazioni, peso vivo, stato di ingrassamento, merito genetico, epoca di parto. La somministrazione di Aloe è avvenuta da 2 settimane prima della data presunta del parto sino a 14 giorni dopo il parto. L'omogeneizzato di aloe è stato somministrato per os individualmente a ciascuna bovina, al mattino in occasione della distribuzione della foraggiata. Le bovine di controllo hanno invece ricevuto la sola dieta *unifeed* utilizzata presso l'allevamento.

Controlli sulle bovine – L'allevamento sperimentale in cui si è svolta la prova è provvisto di sistemi automatizzati di rilevazione delle performance e di talune condizioni sanitarie delle bovine. In particolare le bovine sono dotate di un podometro, posizionato sull'arto posteriore destro, e di un collare. Questi dispositivi permettono l'acquisizione, in appositi e distinti *softwares*, dei seguenti dati:

- podometro (sistema AFIMILK, SAE Afikim, Israele): attività motoria (numero passi), produzione di latte, conducibilità elettrica e peso vivo;
- collare (sistema RUMINACT, Milkline, Podenzano, Piacenza): attività motoria (movimenti del collo) e attività ruminativa.

Oltre a tali rilevazioni le bovine sono state singolarmente monitorate nell'ultimo mese di gravidanza e nel primo mese di lattazione, per i seguenti aspetti:

- stato di salute, oltre alle indicazioni provenienti dai dispositivi automatici, è stato richiesto l'intervento del veterinario aziendale in presenza di sintomi patologici (es. febbre, ridotta ruminazione). Le diagnosi e gli eventuali trattamenti farmacologici sono stati registrati (WP3.2);

- stima dello stato di ingrassamento (metodo proposto dall'*Agricultural Development and Advisory Service*, su scala 1-5), ogni due settimane ed il giorno dopo il parto (WP3.2);
- temperatura rettale, a circa -14, -7, -3 giorni dal parto, il mattino seguente al parto e dopo 3 e 7 gg dallo stesso (WP3.2);
- due visite ginecologiche tra 7-10 e 28-35 giorni di lattazione (WP3.2);
- prelievi ematici dalla vena giugulare immediatamente prima del pasto del mattino, rispettivamente circa 21, 14 (prima della somministrazione dell'omogeneizzato), 7 e 3 giorni prima del parto presunto; il mattino seguente il parto, nonché a 3, 7, 14 (ultimo giorno della somministrazione del prodotto), 21, 28 giorni di lattazione. L'ematocrito è stato determinato immediatamente, mentre al termine della prova, sul plasma stoccato a -20°C, si è proceduto alla determinazione dei seguenti parametri: aptoglobina, ceruloplasmina, albumine, colesterolo, paraoxonasi, bilirubina, zinco, calcio, proteine totali, globuline, mieloperossidasi, ROM totali, GOT, GGT, glucosio, NEFA, BHB, creatinina, urea, vitamina A, e vitamina E (WP3.3). Inoltre, il plasma è stato analizzato per la determinazione della concentrazione di antrachinoni caratteristici (aloina ed aloe-emodina);
- prelievi rappresentativi di colostro della prima mungitura e di latte dalla mungitura del mattino a 7, 14, 21 e 28 giorni di lattazione rispettivamente. Tali campioni sono analizzati entro poche ore dal prelievo con uno strumento (MilkoScan™ FT120) che si avvale dell'analisi ad infrarosso con trasformata di Fourier (FTIR) per la determinazione di: grasso, proteine, caseine, urea, lattosio, acidità titolabile, attitudine alla coagulazione. Inoltre su apposite aliquote è stato determinato il contenuto in cellule somatiche ed è stata eseguita la ricerca di alcuni antrachinoni caratteristici (aloina ed aloe-emodina) (WP3.3).

Su tutte le bovine seguite nella ricerca sono stati registrati gli esiti della visite ginecologiche, nonché gli interventi inseminativi sino alla diagnosi di gravidanza o alla riforma.

Controlli sui vitelli nati dalle bovine alimentate o meno con l'omogeneizzato di aloe (WP4)

I vitelli delle bovine in sperimentazione hanno ricevuto il colostro delle madri per i primi 2 pasti. Su tali vitelli sono stati eseguiti i seguenti controlli:

- stato di salute valutato giornalmente (WP 4.2)
- misurazione del peso vivo alla nascita, a 7, 14 e 21 giorni di vita (WP 4.2)
- prelievi ematici alla nascita (entro 12 ore) e poi a 3, 7, 14 e 21 giorni di vita, a circa 5 ore dal pasto del mattino. Sul sangue intero si è proceduto alla determinazione dell'ematocrito, mentre sul plasma ottenuto dopo centrifugazione, frazionato in più aliquote e conservato a -20°C sino al momento delle determinazioni analitiche, si è proceduto alla determinazione di: glucosio, colesterolo, urea, calcio, zinco, cerulo plasmina, proteine totali, globuline, GOT, GGT, bilirubina totale, fosfatasi alcalina, aptoglobina, ROM totali. Sono infine stati determinati gli antrachinoni caratteristici (aloina ed aloe-emodina) (WP 4.2)

Analisi degli alimenti e dell'omogeneizzato di Aloe: tutti gli alimenti somministrati alle bovine (incluso l'omogeneizzato di aloe) sono stati analizzati per la determinazione dei principi immediati (umidità, proteina grezza, sostanze grasse grezze, fibra grezza, NDF, ADF, amido, ceneri). Le analisi sono state utilizzate per la stima delle razioni effettivamente ingerite dalle bovine (WP3.2).

Relativamente all'omogeneizzato di Aloe utilizzato durante la sperimentazione si è proceduto anche alla determinazione del contenuto in aloina A e aloina B, ad ogni preparazione, nonché del contenuto in β -polisaccaridi (acemannani) nel parenchima fogliare a cura dell'UO2, i cui dati sono già stati menzionati nella relazione del 2° semestre.

Risultati su stato di salute, performance produttive e metabolismo (WP3.5).

- Bovine.** Nel corso della ricerca sono state controllate complessivamente 36 bovine, suddivise nei 3 trattamenti: controllo, somministrazione di 100 e 200 g/capo/d di omogeneizzato di aloe tra due settimane prima e due settimane dopo il parto. Gli alimenti utilizzati per formulare le diete offerte alle bovine si sono dimostrati di buona qualità, dal punto di vista igienico e nutrizionale. Le diete offerte alle bovine nel corso della ricerca, sia prima che dopo il parto, sono risultate adeguate a coprire i fabbisogni nutrizionali. La somministrazione dell'aloè è stata effettuata mediante drench, onde evitare che l'amarezza del prodotto potesse modificare l'ingestione degli altri alimenti. L'analisi statistica è in corso, ma si possono già trarre alcune considerazioni sul trattamento eseguito. Innanzitutto è stato dimostrato che la

somministrazione di omogeneizzato di *aloe arborescens*, nelle quantità e con le modalità indicate nel protocollo, non ha determinato effetti negativi sull'appetito o effetti indesiderati sulle bovine a livello sanitario (temperatura corporea ed incidenza di patologie), produttivo e metabolico. Anzi, la somministrazione di tale prodotto ha evidenziato alcuni effetti positivi sulle bovine nel corso del periparto:

- i. l'incidenza delle affezioni cliniche verificatesi nel periparto non è stata sostanzialmente diversa tra i 3 gruppi. Solo in 5 bovine si è dovuto ricorrere a terapie che hanno previsto l'uso di antibiotici (sistemici, in mammella o in utero) e/o sulfamidici nel primo mese di lattazione: 2 nei gruppi aloe 1 e controllo ed una nel gruppo aloe 2. Tuttavia, il numero di trattamenti complessivi è stato più basso nel gruppo aloe 2 (1 solamente) rispetto ai 4 di aloe 1 ed ai 5 del controllo;
- ii. è stata osservata una minore riduzione delle riserve corporee nelle prime 4 settimane di lattazione al dosaggio più elevato di aloe, sia rispetto al gruppo di controllo che al dosaggio più basso;
- iii. il contenuto in cellule somatiche del latte, principale indicatore della sanità della ghiandola mammaria, è risultato più basso nei gruppi che hanno ricevuto l'omogeneizzato di aloe, per l'intero primo mese di lattazione;
- iv. la produzione di latte è risultata leggermente più elevata del gruppo di controllo in entrambe le tesi riceventi aloe, con tenori di proteine analoghi e di grasso inferiori, ma solo nella prima settimana di lattazione;
- v. a livello metabolico le tesi con aloe (specie Aloe 2) hanno presentato nell'immediato post-parto livelli di glicemia più elevati e livelli di acidi grassi non esterificati e di corpi chetonici più bassi rispetto alle bovine di controllo. Tali dati, unitamente al minore calo di riserve corporee, confermano che nelle bovine trattate vi è stato un bilancio energetico migliore;
- vi. a livello dello stato infiammatorio, l'interpretazione non è facile in quanto tutti i soggetti hanno mostrato la usuale risposta di fase acuta nel postparto, con aumento delle proteine di fase acuta positiva (aptoglobina e ceruloplasmina). Tuttavia le bovine trattate con aloe hanno evidenziato un loro calo dopo la prima settimana di lattazione più rapido delle bovine di controllo. Inoltre alcune proteine di fase acuta negativa (es. colesterolo indice delle lipoproteine e la vitamina A, indice del suo carrier, la Retinol Binding Protein), la cui sintesi è ridotta in caso di severi fatti infiammatori, hanno mostrato livelli più elevati al termine del primo

mese di lattazione nelle bovine riceventi aloe, confermando una migliore funzionalità epatica e una migliore capacità di risposta al fatto infiammatorio;

vii. la fertilità è risultata migliore nei gruppi che hanno ricevuto aloe, specialmente al maggior dosaggio.

Infine va anche osservato che non sono emerse differenze di rilievo nel contenuto di immunoglobuline nel colostro tra le bovine trattate o meno con aloe.

b) Per quanto riguarda i vitelli è stato osservato che nei soggetti nati dalle bovine che hanno ricevuto l'omogeneizzato di aloe vi è stato un peso vivo alla nascita leggermente superiore (circa 5%) ed un incremento ponderale nei primi 21 giorni di vita leggermente più elevato. A livello ematico si è invece osservato che l'aumento di immunoglobuline è risultato analogo tra i vitelli dei gruppi le cui madri hanno ricevuto aloe e quelli di controllo. Nei vitelli trattati le uniche differenze degne di nota hanno riguardato il livello di ematocrito e di albumine, che sono risultati più elevati dei soggetti di controllo, suggerendo un migliore adattamento nelle prime settimane di vita.

Risultati sul contenuto in aloina nel plasma e nel latte.

I risultati ottenuti hanno evidenziato una sostanziale differenza rispetto a quanto riportato da alcuni autori, che ipotizzano la presenza ematica, a seguito di trasformazione da parte della microflora intestinale, della sola aloe-emodina. Nel plasma delle bovine è stata rilevata la sola aloina, mentre l'aloie-emodina è risultata sempre assente.

Le prove di carico (somministrazione orale di 200 g di omogeneizzato su 6 animali, ed analisi in tempi successivi nelle 24 ore a seguire) hanno evidenziato una cinetica di assorbimento ben riproducibile. Tutti gli individui presentavano un massimo di assorbimento dell'aloina (dell'ordine di grandezza di 5-10 µg/L) nelle 4-6 ore successive alla somministrazione, seguito da una progressiva scomparsa della molecola dal torrente ematico. Dopo 24 ore dalla somministrazione, l'aloina non era più misurabile.

L'aloina non è stata poi rilevata nel plasma delle bovine nel periparto, a seguito di somministrazione giornaliera di 100 o 200 g/d, se non a livello di tracce inferiori al limite di determinazione analitico. Analogamente, l'aloina non è mai stata rilevata nel plasma dei vitelli nati da bovine cui è stata somministrata Aloe. I dati non evidenziano pertanto un

accumulo di aloina a livello ematico, sebbene questa sia assorbita a seguito di somministrazione orale.

I primi risultati delle analisi in corso sul contenuto in aloina nel latte, sono in accordo con quanto osservato per il plasma, in quanto anche nel latte l'antrachinone risulta assente.

Il Responsabile Scientifico

Dr Erminio Trevisi