



FONDAZIONE INIZIATIVE ZOOPROFILATTICHE E ZOOTECNICHE
BRESCIA

AGGIORNAMENTI SULL'ALLEVAMENTO DELL'ASINA DA LATTE

Eugenio Milonis
Paolo Polidori



EDITO A CURA DELLA
FONDAZIONE INIZIATIVE ZOOPROFILATTICHE
E ZOOTECNICHE - BRESCIA

1¹⁴

AGGIORNAMENTI SULL'ALLEVAMENTO
DELL'ASINA DA LATTE

FONDAZIONE INIZIATIVE ZOOPROFILATTICHE E ZOOTECNICHE
- BRESCIA -

Responsabile scientifico: Prof. MARIO COLOMBO

**AGGIORNAMENTI SULL'ALLEVAMENTO
DELL'ASINA DA LATTE**

a cura di
EUGENIO MILONIS
PAOLO POLIDORI

EDITO A CURA DELLA
FONDAZIONE INIZIATIVE ZOOPROFILATTICHE
E ZOOTECNICHE - BRESCIA
Via Istria, 3/b - 25125 Brescia

ISBN 978-88-97562-28-3

© Fondazione Iniziative Zooprofilattiche e Zootecniche - Brescia, gennaio 2021

Litos s.r.l. - Gianico (BS) 2021

INDICE

S. MASINI.....	VII
<i>Agricoltura sociale e pet therapy</i>	
M. COLOMBO.....	IX
<i>Presentazione</i>	
PREFAZIONE	
E. MILONIS.....	3
Un alimento antico per una società moderna	
SANITÀ ANIMALE	
F. LAUS, M. SGORBINI, M. BAZZANO, I. NOCERA.....	17
Principali patologie dell'asino	
C. VULLO.....	39
Sedazione, anestesia e trattamento del dolore nell'asino	
V. VENEZIANO, F. BUONO, L. PACIFICO.....	49
Biologia, trattamento e controllo dei principali endoparassiti dell'asino	
E. PALMA, J. MAIUOLO, F. FARAGÒ, D. BRITTI.....	73
Farmaci in uso nella specie asinina	
PRODUZIONE DEL LATTE	
M. PANZERA.....	107
Fisiologia ed etologia dell'asina da latte	
A. CARLUCCIO, I. DE AMICIS, R. BUCCI, D. ROBBE.....	117
La riproduzione nella specie asinina	
P. DE PALO, A. TATEO.....	129
La lattazione dell'asina	
M. MARTINI, I. ALTOMONTE, F. SALARI.....	141
La frazione lipidica del latte di asina	
S. VINCENZETTI, P. DI GIROLAMI, P. POLIDORI.....	149
Nucleotidi nel latte di asina	
D. BEGHELLI.....	157
Antiossidanti nel latte d'asina	
F. COLORETTI.....	165
Prodotti lattiero-caseari e probiotici a base di latte d'asina	
D.M. SPERA, M. PELLEGRINI, A. SABATINI.....	177
Il trattamento termico del latte d'asina: tecniche a confronto	

DIFFERENTI UTILIZZI DEL LATTE DI ASINA

F. FROIO, M.C. CRISTIANO, D. PAOLINO.....	191
Applicazioni cosmetiche e cosmeceutiche del latte d'asina	
R. PATACCHIOLA, G. DI DONATO, C. CAUZZO, S. DI PILLO, F. CHIARELLI.....	197
Uso del latte d'asina in pazienti con allergia alle proteine del latte vaccino (APLV)	
G. DI DONATO, R. PATACCHIOLA, C. CAUZZO, S. DI PILLO, F. CHIARELLI.....	203
L'allergia alle proteine del latte vaccino in età pediatrica	
C. CAUZZO, R. PATACCHIOLA, G. DI DONATO, S. DI PILLO, F. CHIARELLI.....	207
Diagnostica molecolare nell'allergia alle proteine del latte vaccino (APLV)	

AGRICOLTURA SOCIALE E PET THERAPY

L'esperienza di benessere legata ad una sana alimentazione risulta potenziata quando è saldamente inserita in un progetto sociale realizzato nell'ambito di un'impresa agricola multifunzionale che sempre più spesso si affida alle docili virtù della specie asinina per fornire servizi assistenziali alla persona.

Accanto alla immissione nel mercato di prodotti alimentari, l'agricoltura presenta oggi sviluppi ulteriori, orientati alla promozione di migliori condizioni di salute e benessere attraverso l'offerta di servizi di riabilitazione e di cura, di educazione, di formazione, di organizzazione di attività pensate per particolari categorie di utenti (come appunto gli «agriasili»), i servizi di accoglienza diurna per anziani, la riorganizzazione di reti di prossimità per la cura e il supporto alla vita degli anziani), di aggregazione e di coesione sociale per i soggetti maggiormente vulnerabili nonché di creazione di opportunità occupazionali per le persone a bassa contrattualità.

In particolare, l'agricoltura sociale, espressione della multifunzionalità in agricoltura, se costituisce approdo legislativo recente, trova nelle diverse esperienze territoriali numerosi esempi, attraverso le pratiche di *onoterapia* assai diffuse nell'ambito della prestazione di servizi di *welfare* per offrire a bambini, anziani o a persone con disturbi psico-fisici esperienze di apprendimento e socializzazione, in forma individuale o collettiva. Sotto questo profilo, ad esempio, soluzioni interessanti sono state presentate, anche a livello regionale, attraverso il riconoscimento del valore terapeutico e riabilitativo degli interventi praticati all'interno delle cosiddette fattorie didattiche e sociali dirette a migliorare le condizioni di salute e le funzioni fisiche, emotive e cognitive ovvero la qualità della vita di particolari categorie di persone.

La campagna rappresenta, oltretutto, luogo privilegiato di recupero del benessere psico-fisico della persona, non soltanto grazie alle risorse naturali presenti nel contesto rurale, ma anche per l'impegno dell'imprenditore agricolo e della sua famiglia ad incoraggiare legami socio-affettivi nelle occasioni di lavoro attraverso le attività di coltivazione e allevamento. Il mondo rurale mostra, così, la capacità di offrire servizi alla società in uno scenario assolutamente originale e idoneo a rispondere a sempre nuove e più complesse esigenze poste da minori non autosufficienti, marginalizzati o bisognosi di condividere esperienze educative, tramite lo svolgimento di attività all'aria aperta.

L'agricoltura, in effetti, presenta numerose opportunità in termini economici e ambientali ma costituisce anche una valida risorsa per l'intero sistema Paese assicurando, sul piano sociale, una migliore qualità della vita delle comunità, sempre più sensibili a ricercare spazi di prossimità da vivere in armonia con la natura. Le risorse ambientali e culturali della campagna sono, così, ripensate non soltanto in termini di ricezione ed ospitalità, ma in una prospettiva più ampia, di soddisfacimento di interessi a cui l'assistenza sanitaria pubblica non è sempre in grado di rispondere adeguatamente. La centralità del ruolo dell'imprenditore agricolo nei servizi di *welfare* si individua anche nel rapporto con le città, che registrano numerose problematiche dovute al consumo di suolo, all'assenza di spazi verdi e alle inefficienze del trasporto pubblico locale, nonché alla mobilità congestionata e ai problemi di inquinamento.

D'altra parte, la maggiore attenzione anche a livello europeo per la tutela della biodiversità ha ulteriormente favorito l'impegno degli imprenditori agricoli nelle attività di recupe-

ro di razze animali, e di asini, in particolare, dal rischio di estinzione. Nel nostro Paese sono 130 le razze allevate salvate dall'estinzione. Ad oggi, sono custodite ben 7 razze di asini, tra le quali si segnala l'asino romagnolo, spesso impiegato per la produzione di latte e per finalità assistenziali. Il recupero dell'allevamento della specie asinina rappresenta, allora, un valido intervento a tutela della biodiversità e, insieme, un'occasione di rinnovato sviluppo per molte aree marginali.

Dr. STEFANO MASINI

PRESENTAZIONE

Nella rilettura di questa nuova edizione del libro su L'allevamento dell'asina da latte, sono rimasto affascinato da molteplici fattori, che traspaiono qua e là nel testo coordinato con capacità e professionalità dal Prof. Paolo Polidori.

La figura dominante, qualsiasi pagina venga letta del libro, è quella di questo magnifico animale: l'asino, nella sua declinazione al femminile. Nel linguaggio comune questa specie è figura poco apprezzata e solitamente assimilata alla stupidità. Ma non è così, bastano poche esperienze per riconoscere nell'asino un animale di grande intelligenza e sensibilità. Purtroppo disponibile all'asservimento del "padrone" anche più spregiudicato, malvagio o stupido. Ma di contro abbiamo molti esempi di una convivenza, complicità e collaborazione fra l'uno e l'altro, che testimoniano quanto l'uomo e l'asino, sappiano cogliere le reciproche peculiarità per ottenerne vantaggi comuni. Questo cappello alla prefazione del testo era dovuto, come riconoscimento mio e della Fondazione, a chi valorizza una specie che meriterebbe più considerazione dall'uomo e che ci ha accompagnati nella nostra evoluzione.

Il testo, se dovessi usare un unico termine, lo definirei: formidabile. Gli articoli nel loro insieme vanno a costituire non un semplice libro, ma un vero e proprio trattato sull'asina da latte. Dalla gestione dell'allevamento, alle avversità, dal ruolo sociale, alla fisiologia, dall'uso alimentare del latte a quello cosmetico. Ogni argomento viene approfondito per precisarne i particolari, ma sempre mantenendo un livello comunicativo e comprensivo, agibile al medico veterinario, ma pure all'allevatore neofita.

Per altri versi le informazioni che si ricevono alla lettura dei diversi testi, consentono anche al semplice curioso, di apprendere nel rigore scientifico: curiosità, aneddoti e nozioni, affascinanti e sufficienti a formare una preparazione di base per ulteriori approfondimenti.

Insomma un testo che la Fondazione non solo condivide, ma di cui ne va orgogliosa sostenendone la stampa. Non resta che ringraziare il coordinatore dell'opera, il prof. P. Polidori e gli Autori che hanno riempito di contenuti una eccellente idea e che hanno messo a disposizione il loro "sapere" a vantaggio degli interessati e non da meno, dell'asino. Ai lettori una buona lettura.

Prof. MARIO COLOMBO
Responsabile Scientifico

PREFAZIONE

UN ALIMENTO ANTICO PER UNA SOCIETÀ MODERNA

EUGENIO MILONIS

Psicoterapeuta, Azienda Asinomania, Introdacqua (Aq)

“Di core innocente...”

“Vive di poco et contentasi di ogni cosa, sopporta molto la carestia, la fame, la fatica, le busse, è pazientissimo di ogni persecuzione, di semplicissimo e poverissimo spirito. Si ch'egli non sa discernere tra le lattughe et i cardi, di core innocente et mondo, e senza colera, et ha pace con tutti gli animali; onde in merito di questa sua bontà non ha pidocchi, rare volta inferma, et più tardo che ogni altra bestia muore”.

(TOMMASO GARZONI)

Animale da soma per millenni, oggi viene riscoperto come partner nei percorsi di *ono*-terapia, nei progetti scolastici *ono*-didattica, nelle attività ricreative e nel trekking someggiato *ono*-turismo. In particolare negli ultimi anni si sta assistendo ad un processo di rivalutazione di tale animale dovuto ai recenti studi relativi al possibile impiego del latte d'asina, un prodotto naturale ascrivibile nella categoria dei pharma-food/nutraceutici utili ai bambini come agli adulti, a persone con problemi cardiovascolari o con problemi immunologici. Il latte d'asina possiede anche caratteristiche particolarmente apprezzate in cosmetologia, per la produzione di saponi, creme, bagno schiuma e altri prodotti per la pelle. Secondo recenti studi l'elevata percentuale di lisozima presente nel latte d'asina ed il contenuto vitaminico risultano efficaci nel trattamento nei problemi della pelle (eczemi, psoriasi, allergie, infiammazioni, ecc...).

Dal giorno della sua domesticazione, che risale a cinquemila anni avanti Cristo, l'asino ha svolto il ruolo di *mezzo di trasporto* (foto 1), ogni cosa veniva trasportata a dorso d'asino, dai prodotti agricoli ai prodotti artigianali, tanto da meritarsi l'appellativo di bestia da soma e, contemporaneamente, ha svolto il ruolo di *macchina da lavoro* (foto 2), l'asino faceva girare la macina del frantoio e la macina del mulino, tirava l'aratro (foto 3), l'erpice, azionava la pompa per il sollevamento dell'acqua per l'irrigazione dei campi (foto 4).

Nel secolo scorso è stato utilizzato, insieme al mulo, dall'esercito italiano per il trasporto di armi e rifornimenti (foto 5). Nelle pause di riposo i più piccoli ne approfittavano per i loro giochi (foto 6).



01



Un ruolo, apparentemente del tutto secondario, è stato quello della produzione di latte. Sin dai tempi più antichi era noto come questo latte fosse il più simile al latte materno.

D'altra parte l'utilizzo per i neonati di latte di origine animale risale alla notte dei tempi. Infatti nella mitologia si racconta che Rea, moglie di Crono, affido il figlio Giove a delle ninfe perché lo nutrissero con il latte della capra Amaltea (foto 7).

Successivamente sempre più si fa ricorso al latte d'asina sino a diventare normale consuetudine procurarsene per l'allattamento dei neonati come dimostrato da numerose testimonianze storiche.

L'utilizzo di latte d'asina quale sostituto del latte materno e una pratica antica che la tradizione popolare ha tramandato sino ai nostri giorni. Ancora negli anni cinquanta, per l'alimentazione dei lattanti, era normale fare ricorso al latte d'asina nei casi in cui vi era carenza di latte materno o quando si manifestava una intolleranza verso l'assunzione di latte vaccino.

Di certo la consistente presenza di asini sul nostro territorio (mediamente un asino ogni due famiglie) ha reso estremamente facile procurarsi latte d'asina in caso di bisogno; in particolare nel mondo rurale non era difficile trovare un vicino di casa con un'asina che allattasse il suo puledro e che potesse quindi offrire il latte necessario al nutrimento di un neonato.

In tutte le Regioni ove si è affermata nel tempo la presenza dell'asino, Asia, Africa, Europa, si trovano testimonianze e documenti che descrivono le proprietà del latte d'asina, decantato per le sue virtù terapeutiche, cosmetiche ed alimentari. Nell'antico Egitto, come testimoniato dalle immagini di bassorilievi dell'epoca, veniva dato ai bambini e raccomandato come rimedio contro vari tipi di malanno. I Greci lo consideravano un eccellente farmaco. I Romani lo consumavano come bevanda prelibata. Ippocrate lo raccomandava come medicinale capace di risolvere ogni affezione. Francesco I di Francia lo usava con successo contro lo stress e l'affaticamento fisico. In Russia e Mongolia, il consumo di latte d'asina e di giumenta, grazie all'abbondante presenza di vitamina A, B ed in particolare C, compensava lo scarso consumo di frutta, verdura e legumi. Stessa cosa accadeva alle popolazioni nomadi che usavano avere al seguito asini e cavalli.

Leone Tolstoj affermava: "Il latte di giumenta da vigore al mio corpo e ali al mio spirito".

In Francia, nella seconda metà dell'Ottocento, in assenza di biberon sterilizzabili, si decise di sperimentare l'allattamento dei neonati bisognosi direttamente alla mammella dell'asina (foto 8). Presso l'Hospice des Enfants Assistés di Saint-Vincent de Paul-1877, si realizza, sotto controllo medico, la prima esperienza clinica dell'utilizzo del latte d'asina in ambito pediatrico (foto 9).



L'elenco delle proprietà e dei benefici derivanti dall'uso di latte d'asina che ci giungono dalla tradizione sono innumerevoli: rafforza il sistema immunitario, rigenera la flora intestinale attraverso l'azione dei suoi fermenti, elimina l'acidità di stomaco, disintossica il fegato, favorisce la cicatrizzazione di ferite, calma l'irritazione della laringe e la tosse ostinata (è stato usato anche per combattere la pertosse, non a caso chiamata anche *tosse asinina*), combatte l'anemia, combatte i problemi della pelle quali psoriasi-acne-eczema, agisce sui disturbi di origine nervosa della pelle come lo stress.

Dall'antico Egitto è giunta sino a noi la leggenda della regina Cleopatra che era solita fare bagni al latte d'asina per mantenersi giovane e mantenere fresca e morbida la sua pelle. Dopo Cleopatra la storia ha visto numerose altre donne dell'antica nobiltà fare "bagni di giovinezza" al latte d'asina come Poppea moglie di Nerone (foto 10) della quale si racconta portasse sempre al suo seguito 500 asine. Di lei scrive Plinio Il Vecchio: "Si ritiene che il latte d'asina elimini le rughe della pelle del viso e la renda più morbida e bianca e si sa che certe donne vi si curano le gote sette volte al giorno, facendo bene attenzione a questo numero". Fu Poppea, la moglie dell'imperatore Nerone ad inaugurare questa moda, facendone uso anche per il bagno, e per questo in viaggio si portava indietro mandrie di asine. Oppure Messalina, che amava questi "bagni di bellezza" per l'azione antiruga che garantiva sulla pelle. Più tardi verrà prescritta dal suo medico a Madame de Pompadour per risolvere alcuni disturbi di salute.



IL PIÙ VICINO AL LATTE UMANO

Nel mondo dei mammiferi, del quale l'uomo fa parte, ogni specie animale produce un latte particolarmente idoneo alle esigenze della propria prole. Ogni specie produce un latte diverso dal latte prodotto da tutte le altre specie di mammiferi sia nella composizione che per le proprietà che contiene. In questo modo i cuccioli delle diverse specie godono di un alimento iniziale perfettamente rispondente a tutti i loro bisogni nutrizionali.

Questo vale anche per il cucciolo dell'uomo. Pertanto il latte migliore per un neonato è il latte della mamma. Solo questo risponde perfettamente alle necessità di una crescita sana e di uno sviluppo armonioso.

In assenza del latte materno come possiamo provvedere all'alimentazione del piccolo? Cosa offre il mercato? Ogni tipo di latte per la prima infanzia oggi disponibile sul mercato è un latte "morto". Alimenti morti, liquidi bianchi apparentemente simili al latte che non hanno nulla a che vedere con il latte se non per l'aspetto esteriore.

La parola "latte" per definizione indica "*il liquido bianco, opaco, altamente nutritivo, prodotto dalla secrezione delle ghiandole mammarie subito dopo il parto, destinato all'alimentazione della prole dei mammiferi nei primi mesi di vita*".

Tutto il resto, derivato da processi di manipolazione, trasformazione, elaborazione di prodotti di origine vegetale, richiede un'altra denominazione.

Il risultato dell'utilizzo di questi "pseudo latte", lo leggiamo nel colore della pelle dei nostri piccoli. Dove sono più i bambini "bianchi e rossi"? Oggi sono tutti olivastri, hanno un colore spento. Lo riscontriamo nella difficoltà di crescita, nella carenza di calcio, nei disturbi gastro-intestinali e nel costante aumento di intolleranze alimentare e allergie varie.

La sorte ha voluto essere generosa con l'uomo facendo in modo che esistesse in natura un latte in tutto e per tutto simile al latte materno: *il latte d'asina*. Chissà per quale antica parentela dell'uomo con l'asino proprio questo animale produce un latte simile a quello umano.

D'altra parte è una parentela che conoscono bene i bambini che da sempre si sentono chiamare "somari" quando non sono bravi a scuola.

Il latte d'asina è un latte vivo, in grado di rispondere come il latte materno a tutte le necessità alimentari del cucciolo d'uomo. Un alimento importante anche in campo geriatrico e nei casi di carenza di calcio. L'affinità del latte d'asina con il latte umano è grande. Asini e uomini sono monogastrici, a differenza dei ruminanti. Il loro sistema digestivo è simile e questo rende molto simile anche il latte che producono. Dall'analisi comparativa della composizione del latte di donna con il latte degli animali domestici si evidenzia immediatamente che il latte d'asina è il più vicino al latte di donna.

In particolare il latte d'asina è ricco di lisozima, un enzima con funzione antibatterica; e il più vicino al latte di donna per contenuto proteico, e come per la donna contiene un'alta percentuale di calcio; ha un alto tasso di vitamina C e un basso tenore di lipidi, in compenso quelli che contiene sono grassi polinsaturi ricchi di omega3 e omega 6; nella sua composizione e presente il lattosio in abbondanza e questo gli conferisce un sapore dolce ed un alto valore energetico; inoltre favorisce le funzioni della flora intestinale, svolge un'attività calmante sul sistema nervoso, da sollievo ad un fegato affaticato. È un latte con una grande digeribilità ed un alto valore nutritivo.

Nel Medio-evo era abitudine comune bere latte d'asina. Più tardi in Francia si diffondeva l'abitudine di bere latte d'asina come rimedio per la salute dei malati, anziani indeboliti, bambini convalescenti e ricchi borghesi che avevano la possibilità di acquistarne. Infatti questo "*prezioso elisir di giovinezza*" è sempre stato un rimedio di lusso non alla portata di tutti.

Nasce così nell'800 a Parigi, Londra, Amsterdam il commercio di latte d'asina venduto porta a porta. I mercanti conducevano le asine per le strade della città gridando "*ecco il latte d'asina bevete il latte d'asina*". Il latte veniva munto sul posto e consegnato ancora caldo (foto 11).



LATTE D'ASINA E RICERCA SCIENTIFICA

Il latte d'asina è un prodotto antico. Fortemente ancorato agli usi e alle tradizioni radicate nella cultura dei popoli (foto 12). La comunità scientifica moderna eredita dalla tradizione storica una conoscenza empirica di grande valore: l'importanza del latte d'asina come il più adatto all'alimentazione dei neonati in quanto è il più vicino al latte umano, il suo alto potere nutritivo, una grande digeribilità, le qualità dietetiche, un rimedio per combattere innumere-

voli disturbi dalla carenza vitaminica alla regolazione della flora gastroenterica, dalla cura del sistema nervoso alla disintossicazione del fegato, dalla cura della stipsi alla preparazione di bevande fermentate, dal rafforzamento del sistema immunitario alle proprietà dermocosmetiche.

Oggi la possibilità di utilizzare latte d'asina non può essere più lasciata alla tradizione (foto 13). La comunità scientifica si vede impegnata a qualificare il latte d'asina e a studiarne le potenzialità, non solo come sostituto del latte materno per il nutrimento della prima infanzia, ma anche per altri usi parafarmacologici e cosmetici.

Pertanto il latte d'asina non si configura semplicemente come un alimento, ma deve essere riconosciuto come un nutraceutico da essere utilizzato non solo nell'alimentazione della prima infanzia, ma anche come integratore nella dieta di adulti e anziani. I trattamenti al latte d'asina condotti sperimentalmente in numerosi ospedali in Italia, hanno dato risposte decisamente positive. È un alimento "vivo", ricco di fermenti vivi, a differenza di una pluralità di ritrovati oggi presenti sul banco del farmacista, chiamati "latte" ma che, aldilà dell'aspetto esteriore, non hanno nulla in comune con il latte.

"Pseudo latte" derivati da un processo di manipolazione e trasformazione del riso, della soia o della mandorla.

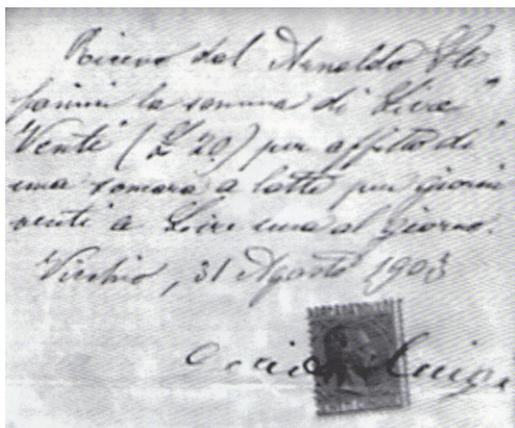
L'utilizzo di latte d'asina trova il favore del pediatra che vede la possibilità di avvalersi di un prodotto naturale "vivo" il più vicino al latte materno, per le sue caratteristiche organolettiche e il



"In questa casa visse don Gaetano Vitale (1860-1952) che a tanti fanciulli diede vita con la vendita del suo latte d'asina".

valore ipoallergenico e pertanto ne rappresenta l'unico vero sostituto. Ma il pediatra chiede precise garanzie volendo prescrivere un latte sicuro igienicamente, controllato in tutte le fasi della filiera, con una valutazione delle qualità chimico-fisiche e delle sue caratteristiche nutrizionali-funzionali e garantito da prove certe di laboratorio e da un marchio di qualità ponendo fine ad un mercato "spontaneo" del prodotto lasciato a sporadiche iniziative individuali. Il latte d'asina dovrà essere prodotto secondo precisi disciplinari di allevamento, produzione e distribuzione. Solo a queste condizioni potrà ottenere l'interessamento di pediatri e del Ministero della Salute. La realizzazione di un progetto complessivo di ampia portata ha come obiettivo quello di rispondere ad una particolare fascia di mercato che si rivolge sempre più insistentemente ad una linea di prodotti *dieto-preventivi* e *dieto-terapeutici* non solamente nazionale ma internazionale.

Basti ricordare che nascono in Italia oltre 15.000 bambini ogni anno bisognevoli di sostituti o quantomeno integrativi del



*"Ricevo dal Romualdo Stefano la somma di lire venti (L. 20) per affetto di una somara al latte per giorni venti a lire una al giorno
31 agosto 1903"*

latte materno. A questi si aggiungono le richieste di adulti e anziani che necessitano di rafforzare il loro sistema immunitario o che richiedono un apporto di calcio.

MERCATO DI RIFERIMENTO E SVILUPPO SOSTENIBILE

I consumatori, nelle società economicamente sviluppate, sono sempre più alla ricerca di prodotti alimentari naturali con specifiche valenze nutrizionali e salutari. Sono le caratteristiche salutistiche del latte d'asina che favoriscono il successo socio-economico di questo prodotto.

Occorre dare una risposta alla domanda soddisfacendo le richieste e sviluppando successivamente la base di mercato. Il latte d'asina non è un semplice alimento, ma può essere qualificato come "farmalimento" o "nutraceutico" (termine derivato dalla fusione di due termini: nutrizione e farmaceutico), ad indicare un alimento che per le sue proprietà funzionali si colloca appunto al confine tra l'alimento e il farmaco senza peraltro controindicazioni ed effetti collaterali. Un cibo naturale che mostra le sue qualità benefiche tramite la sua introduzione nella dieta alimentare.

L'economia degli allevamenti di asine da latte rappresenta una possibilità per creare nuovi posti di lavoro e frenare l'abbandono di paesi e borghi interessati da tempo ad un declino che non è soltanto demografico, ma anche ambientale. Un'opportunità per favorire uno sviluppo socio-economico sostenibile relativamente, in modo particolare, alle aree interne caratterizzate da alti tassi di spopolamento. La fuga dei giovani dai territori interni e montuosi "*sta condannando queste aree ad una morte imminente*".

È un progetto ritenuto pilota in quanto capace di generare un mirato flusso di iniziative economiche e un ruolo non meno importante sul piano sociale e culturale in quanto, a integrazione dell'iniziativa imprenditoriale per la produzione di latte, con l'asino si possono sviluppare percorsi didattici con le scuole, percorsi di Attività di Mediazione con l'Asino per i centri sociali, offerte turistiche di trekking somaggiato, attività ludico-ricreative.

PROSPETTIVE PER GLI ALLEVATORI

La commercializzazione del latte d'asina rappresenta un'importante risposta alle attese del mondo degli allevatori che numerosi chiedono di ricevere assicurazioni sulla vendita di questo latte per poter iniziare a investire, far crescere e trasformare le proprie aziende da piccole iniziative amatoriali, quali sono oggi, in vere e proprie aziende di produzione.

La nascita e lo sviluppo di allevamenti asinini rappresenta:

- l'apertura ad un mercato italiano e internazionale nel quale non trova al momento concorrenti qualificati e che necessita di grossi quantitativi di latte d'asina;
- la realizzazione di un nuovo modello di produzione nel settore delle moderne linee di alimenti polifunzionali-nutraceutici;
- la possibilità di un concreto rilancio socio-economico delle aree rurali interne, investendo in produzioni agroalimentari rivolte a spazi di mercato di alto valore;
- creazione di nuovi posti di lavoro, contribuendo ad arrestare il fenomeno dello spopolamento delle aree rurali, radicando sui territori giovani imprenditori qualificati;
- incremento della popolazione asinina, oggi a rischio di estinzione, a salvaguardia della biodiversità.

È bene infine sottolineare che l'esistenza di queste imprese rappresenta una risorsa fondamentale per i paesi e le aree in cui sono presenti o hanno riflessi le loro attività. In diversi casi costituiscono una ricchezza che va oltre la sopravvivenza economica di quanti sono impegnati nelle loro attività, in una logica di integrazione tra nuovi modelli e stili di vita e recupero di prodotti e saperi antichi.

ASPETTATIVE DELLE FAMIGLIE

Il latte d'asina rappresenta la migliore risposta ai particolari bisogni delle famiglie che si trovano ad affrontare ogni giorno le difficoltà dei propri figli che dimostrano intolleranza al-



le proteine del latte vaccino. Queste famiglie sino ad oggi sono state assolutamente sole nel cercare una soluzione ai problemi di intolleranza alimentare neonatale.

Quando si vedono fallire uno dopo l'altro tutti i rimedi attualmente disponibili sul mercato, i genitori sono costretti a mettersi alla ricerca del latte d'asina. Il latte d'asina è un prodotto naturale-biologico ascrivibile a buona ragione nella categoria dei pharmafood-nutraceutici utili ai bambini, ma anche ad adulti ed anziani.

La possibilità di inserimento nel mercato di un prodotto "latte d'asina fresco" e "latte d'asina liofilizzato", renderà estremamente facile la diffusione di questo alimento dando contemporaneamente alle mamme la massima garanzia di sicurezza igienica e nello stesso tempo maggiore praticità di utilizzo.

Oggi si comincia a parlare anche di un "latte d'asina pediatrico" studiato per i neonati e arricchito di una componente di grasso che nel latte d'asina è presente in bassa percentuale.

MUNGITURA ETICA

I temi di sanità degli alimenti e del benessere animale sono diventati argomenti di rilevanza sociale internazionale in questi ultimi anni. La stretta relazione tra salute animale e sicurezza alimentare sempre più è all'attenzione dell'acquirente che va alla ricerca delle caratteristiche del prodotto (luogo di provenienza, rintracciabilità, sicurezza, condizioni di allevamento, stato di benessere degli animali, ecc...).

Se garantire la salute del consumatore è diventato un imperativo a maggior ragione il controllo di un alimento destinato in larga misura alla prima infanzia è irrinunciabile.

Il latte d'asina è il latte più vicino a quello della donna e rappresenta un perfetto alimento sostitutivo del latte materno in caso d'intolleranza alimentare del lattante. La possibilità di introdurre con successo il latte di asina, nella dieta dei neonati, è avvalorata dal suo profilo biochimico, sovrapponibile a quello del latte umano.

Le produzioni zootecniche sono orientate al reinserimento delle razze asinine nei territori rurali ed al potenziamento degli allevamenti esistenti, in particolare per la migliore valorizzazione del latte di asina, in virtù dei suoi riconosciuti valori nutraceutici e cosmaceutici garantendo, al contempo, le condizioni di benessere degli animali.

Nelle aziende zootecniche che allevano asine per la produzione di latte, particolare attenzione è dedicata alla cura degli animali in termini di riproduzione, alimentazione, delle rituali operazioni di mungitura e del controllo del benessere animale, in quanto, questi elementi, si rispecchiano sul prodotto finale in termini quantitativi e qualitativi. In particolare per la produzione di latte d'asina è importante garantire un sistema di mungitura che rispetti la natura di questo animale.

Ho definito "etica" la mungitura dell'asina perché l'asina viene munta solo dopo che il puledro ha preso il latte. Questo comporta che da un animale di grossa taglia non si riesce a prelevare più di 1,5 o al massimo 2 litri al giorno. In realtà l'asina produce molto di più. Da una ricerca fatta ad Asinomania è risultato che un'asina di grossa taglia (Ragusana o di Martina Franca) produce dai 10 ai 12 litri latte al giorno che vengono bevuti in gran parte dal puledro, quello che si munge è la rimanenza.

Questo perché a differenza di altri animali da latte come ad esempio la mucca che dopo il parto vede allontanare il vitello allattato artificialmente rendendo possibile mungere l'intera produzione di latte della mucca, nel caso dell'asina questo non è possibile. Infatti la produzione di latte nell'asina è stimolata dalla presenza e dall'attività di suzione del redo. L'allontanamento del cucciolo determinerebbe l'interruzione della produzione di latte. La mammella dell'asina si differenzia da quella della bovina per l'assenza della "cisterna del latte", una cavità intermammaria con funzione di raccolta del secreto liberato dal tessuto ghiandolare.

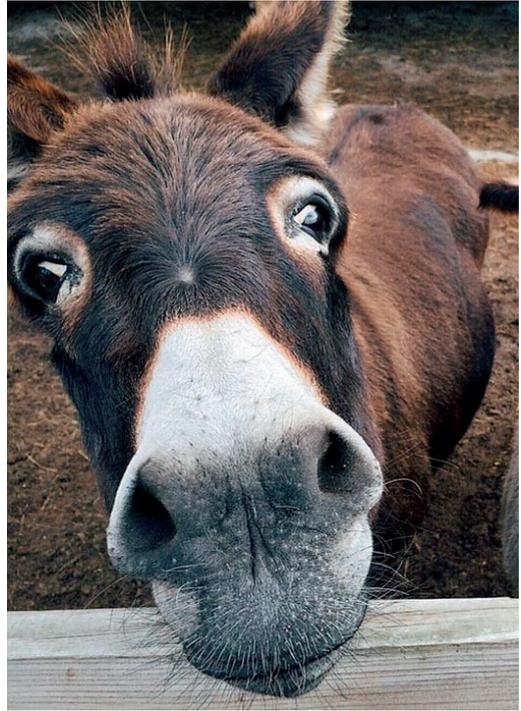
Nella mammella dell'asina quindi non essendoci possibilità di raccolta, le quantità di latte ottenute ad ogni mungitura sono molto esigue. Anche nel periodo di lattazione infatti le mammelle dell'asina sono poco visibili.

L'allattamento dura circa 6-8 mesi. Ne deriva che tutta la tecnica di mungitura è particolare.

L'asina deve sempre avere vicino il pulledro per poter prelevare un po' di latte.

Dopo che il cucciolo ha bevuto si separano mamma e figlio (sempre permettendo loro di potersi vedere) e dopo qualche ora si procede alla mungitura, operazione che può essere ripetuta più di una volta.

Nella prima settimana dopo il parto, la madre produce il colostro per poi produrre il latte maturo. Nei primi 15-20 giorni dal parto è consigliabile lasciare sempre il pulledro sotto la madre in modo da consentirgli di alimentarsi adeguatamente, e inoltre per stimolare la mammella alla produzione di latte.





sezione 1

SANITÀ ANIMALE



PRINCIPALI PATOLOGIE DELL'ASINO

FULVIO LAUS¹, MICAELA SGORBINI², MARILENA BAZZANO¹, IRENE NOCERA²

¹ *Scuola di Bioscienze e Medicina Veterinaria, Università di Camerino*

² *Dipartimento di Scienze Veterinarie, Università di Pisa*

INTRODUZIONE

Gli asini (*Equus asinus*) sono compagni dell'uomo da millenni e sono stati e continuano a essere utilizzati come animali da lavoro in tutto il mondo. Oggi, gli asini sono allevati anche per la produzione di latte da destinare ai bambini con intolleranza alimentare al latte materno e vaccino e, grazie alla loro caratteristiche caratteriali, coinvolti nelle terapie assistite che verranno descritte in successive sezioni. Di conseguenza, il mondo scientifico ha manifestato un rinnovato interesse per questa specie animale, con particolare riferimento allo stato sanitario e alle manifestazioni peculiari rispetto alla specie equina, al benessere in allevamento e alle terapie specifiche o alternative. Molti studiosi, infatti, sono d'accordo sulla necessità di approfondire la ricerca al fine di poter applicare criteri diagnostici specifici per la specie asinina rispetto al cavallo e intervalli di riferimento diversi per le diverse età o momenti fisiologici. In quest'ottica abbiamo voluto fornire notizie e indicazioni su alcuni aspetti delle patologie più frequenti nella specie asinina.

MALATTIE DELL'APPARATO RESPIRATORIO

Le patologie respiratorie di più frequente rilievo nell'asino sono approssimativamente le stesse riscontrabili nel cavallo. Tuttavia, la natura stoica dell'asino, unitamente alla presenza di un riflesso tussigeno molto meno sensibile che nel cavallo, fa sì che la sintomatologia risulti meno evidente nel corso dell'evoluzione patogenetica. Per questa ragione, al momento del rilevamento clinico la malattia si trova spesso in una fase avanzata e quindi con caratteri di maggiore gravità. Altro fattore che rende meno probabile il rilievo precoce della patologia respiratoria è lo scarso utilizzo dell'asino per l'attività sportiva, considerano che l'esacerbazione dei sintomi avviene spesso proprio in corso di esercizio fisico.

Esistono alcune differenze anatomiche di rilievo clinico nell'asino rispetto al cavallo tra cui cavità nasali più strette, apertura laringea posizionata caudalmente, recesso faringeo più profondo, epiglottide più corta e appuntita. Va infine ricordato che la frequenza respiratoria dell'asino può variare da 12 a 28 atti/min e che l'applicazione di una borsa da ri-respirazione può agevolare l'auscultazione polmonare, specialmente negli asini obesi con un pannicolo adiposo di particolare spessore (Evans e Crane, 2018). In merito all'esame citologico delle vie respiratorie profonde è possibile affermare che questo risulta essere sufficientemente sovrapponibile a quello del cavallo (Mendoza et al., 2018).

Relativamente alle patologie delle alte vie respiratorie, le quali possono essere diagnosticate e trattate come nel cavallo, l'asino può presentare una forma di paralisi laringea di origine sistemica, forme di dislocazione dorsale del palato molle nonché affezioni sinusali di origine dentogena come negli altri equidi. L'empiema delle tasche gutturali può verificarsi a seguito di infezioni da *Streptococcus equi equi* o *Streptococcus equi zooepidemicus* mentre la micosi

delle tasche gutturali, per quanto infrequente, assume nell'asino connotazione di particolare severità con epistassi e grave dispnea acuta, da imputare alla struttura faringea "ad imbuto", e che può necessitare di tracheostomia (Evans e Crane, 2018, Laus et al., 2010). La terapia è analoga a quella indicata per il cavallo per quanto il trattamento topico con miconazolo al 2% in gel-emulsione può risultare risolutivo nell'asino (Laus et al., 2010).

Per quello che riguarda le malattie infettive e parassitarie, essendo trasmissibili tra le varie specie di equidi, la promiscuità risulta essere un fattore di rischio, specialmente in aziende in cui le norme igieniche risultano essere scarsamente rispettate o in cui gli animali sono movimentati con una certa frequenza (Mendoza et al., 2018). In simili condizioni, asini e muli possono agire da reservoir per alcune infezioni come quella da herpesvirus e per le verminosi polmonari successivamente trattate in questo capitolo (Finney et al., 2005).

L'influenza colpisce gli asini con notevole frequenza, risultando la malattia infettiva respiratoria più comune e verso la quale questa specie sembrerebbe più sensibile rispetto al cavallo. L'asino con influenza presenta gli stessi sintomi del cavallo, ma è decisamente più suscettibile all'insorgenza di complicazioni quali broncopolmonite e iperlipemia per cui si consiglia l'utilizzo precoce di antibiotici ed il monitoraggio costante della trigliceridemia nei soggetti affetti (Thiemann, 2012). Il protocollo vaccinale è analogo a quello utilizzabile negli altri equidi.

L'asino sembrerebbe più suscettibile all'infezione respiratoria da *Burkholderia mallei*, agente causale della Morva, rispetto al cavallo, in quanto svilupperebbe non solo una forma acuta respiratoria, ma anche un possibile coinvolgimento neurologico come complicanza (Mendoza et al., 2018).

Gli asini possono essere infettati da Equine Herpes virus 1 (EHV1) e EHV4 oltre che da herpesvirus specifici dell'asino (Asinine Herpes virus AHV-1, AHV-2, AHV-3, AHV-4, AHV-5 e AHV-6) anche se non tutti sembrano in grado di causare malattia clinicamente evidente (Mendoza et al., 2018). Gli asini infetti presentano febbre, scolo nasale bilaterale, scolo oculare, linfadenomegalia e talvolta tosse. Situazioni di stress possono riattivare il virus latente in asini portatori e causare forme più gravi, complicate da infezioni batteriche secondarie e iperlipemia (Thiemann, 2008). La diagnosi può essere effettuata per mezzo di tamponi nasofaringei eseguiti nelle prime fasi di malattia o con il doppio prelievo (due prelievi effettuati a distanza di tre settimane) per determinare l'incremento di quattro volte del titolo anticorpale. Tuttavia, l'interferenza di fattori anti-complemento può causare l'insorgenza di falsi positivi nell'asino (Thiemann, 2008). L'isolamento degli animali infetti e, quando necessario, la somministrazione di antipiretici, antibiotici e l'attuazione di cure infermieristiche, costituiscono il trattamento d'elezione (Thiemann, 2008). Aborto, forme neurologiche (EHV1 e 4) ed esantema coitale (EHV3) sono possibili nell'asino, al pari di quanto avviene nel cavallo. Al momento, non esistono vaccini per le forme causate dai virus asinini e la profilassi attuale prevede l'applicazione dei protocolli attualmente prescritti per il cavallo nei confronti di EHV1 ed EHV4 (Mendoza et al., 2018).

Gli asini in età avanzata sono, inoltre, particolarmente suscettibili alla fibrosi polmonare e al collasso tracheale (Mendoza et al., 2018), condizioni tra cui è stato ipotizzato un legame eziopatogenetico identificando AHV-4 e AHV-5 quali possibili agenti causali (Thiemann, 2012). Si può ipotizzare che questa condizione sia equivalente alla fibrosi polmonare multinodulare equina, che è stata a sua volta collegata all'EHV-5 nei cavalli (Mendoza et al., 2018). Gli asini affetti manifestano dispnea inspiratoria ed espiratoria associata a tosse e a rumori respiratori stertorosi per la presenza del collasso della trachea. All'auscultazione il murmure vescicolare non è reperibile nelle aree fibrotiche mentre rantoli e sibili possono essere presenti nelle zone areate. La diagnosi è confermata dal segnalamento (paziente geriatrico) e dall'endoscopia per il rilievo del collasso tracheale nella porzione toracica cranica (Evans e Crane, 2018). L'esame radiografico può risultare utile per la valutazione sia della trachea che del parenchima polmonare. Il trattamento è indirizzato soprattutto alla gestione delle alterazioni

profonde e consiste nella somministrazione di cortisonici per via sistemica o inalatoria, broncodilatatori, diuretici (per ridurre l'edema mucosale) e nel ridurre l'esposizione dell'animale alla polvere. Nei casi più gravi, non responsivi alla terapia, deve essere considerata l'opportunità dell'eutanasia (Evans e Crane, 2018).

Studi epidemiologici hanno dimostrato che sia gli asini che i muli sviluppano anticorpi contro il virus dell'arterite virale (EAV) (Paweska et al., 1997) sebbene non siano mai stati segnalati casi di malattia spontanea in queste specie e nonostante sia stato identificato anche un ceppo asino-specifico (Mendoza et al., 2018).

Relativamente ai parassiti che interessano le vie respiratorie, l'infestazione da *Dictyocaulus arnfieldi* risulta essere di notevole rilievo in questa specie, non tanto per l'impatto sanitario quanto per la possibilità di agire come *carriers*. L'asino infatti, a differenza del cavallo, è asintomatico nella stragrande maggioranza dei casi e può essere veicolo della malattia quando le due specie condividono lo stesso ambiente. Nell'asino sono state individuate prevalenze fino all'87,5% ed è pertanto sconsigliato far convivere le due specie, soprattutto se non vengono attuati piani di controllo parassitario. L'esame coprologico eseguito col metodo di Baermann e il rilievo di infiammazione eosinofila all'esame citologico del liquido di lavaggio broncoalveolare permettono di effettuare la diagnosi. Il parassita risulta essere sensibile ai lattoni macrociclici ed al benzimidazolo (Mendoza et al., 2018).

Tra le patologie non infettive delle basse vie aeree va sicuramente menzionato l'asma equino (o bronchite cronica ostruttiva) che nell'asino può essere diagnosticata e trattata come nel cavallo. Occorre comunque tenere presente che è necessario monitorare l'animale per la possibile insorgenza di laminite a seguito della somministrazione di corticosteroidi, soprattutto negli asini obesi (Evans e Crane, 2018). La somministrazione inalatoria (aerosol) di farmaci cortisonici, agli stessi dosaggi raccomandati per il cavallo, riduce il rischio di effetti collaterali e va sempre presa in considerazione nel trattamento dell'asma nell'asino (Thiemann, 2008).

PIROPLASMOSI

La piroplasmosi è una malattia trasmessa da zecche causata dai protozoi *Babesia caballi* e *Theileria equi* che colpisce tutte le specie di equidi, compresi quindi cavalli, asini, muli e zebre, e risulta essere endemica nella maggior parte delle popolazioni equine nelle aree tropicali e subtropicali del mondo (Kumar et al., 2009; Laus et al., 2015). Diversi studi epidemiologici effettuati in Italia hanno dimostrato l'elevata diffusione di questa malattia tra gli asini, con prevalenze che oscillano tra il 45 e il 57% (Veronesi et al., 2010; Piantedosi et al., 2014; Laus et al., 2015) e con rilevazioni di positività anche per *Anaplasma phagocytophilum* (Veronesi et al., 2014). Gli asini, come avviene per altre patologie, manifestano quasi sempre sintomi di minore gravità rispetto al cavallo, o possono essere completamente asintomatici, agendo così da portatori per altri equidi (Kumar et al., 2009). La forma cronica è al momento considerata quella tipica dell'asino, per quanto esista la segnalazione di un soggetto positivo a *T. equi* con sintomi tipici della forma acuta (Piantedosi et al., 2014). L'asino affetto dalla forma cronica di piroplasmosi manifesta quindi segni non specifici come letargia, inappetenza, diminuzione delle performance (lavorative o produttive) e dimagrimento (Laus et al., 2015).

In una indagine clinico-epidemiologica effettuata in centro Italia, è risultato evidente come asini con leggere alterazioni (lieve letargia e/o perdita di peso) spesso non rilevabili in azienda e affetti quindi da una forma definibile sub-clinica, abbiano in realtà alterazioni ematologiche non trascurabili quali diminuzione dei globuli rossi, dell'emoglobina, dell'ematocrito e delle piastrine, nonché alterazioni delle cellule della linea bianca ed incremento della bilirubina (Laus et al., 2015). Come conseguenza di questo tipo di infezione subclinica, al pari di quan-

to avviene per le forme croniche di malattia, gli asini potrebbero manifestare un decremento delle loro prestazioni di produzione, come ad esempio quelle di latte, sebbene siano necessarie ulteriori osservazioni specifiche per confermare tale correlazione (Laus et al., 2015). Una situazione simile è stata d'altronde accertata anche nei cavalli atleti, in cui una leggera anemia causata da infezione subclinica può comportare scarse prestazioni sportive (Wise et al., 2013). Tuttavia, a causa dell'attitudine naturalmente più tranquilla degli asini, della loro resistenza alle malattie e del tipo di allevamento più rurale, in questa specie potrebbe essere difficile riconoscere alcune sottili alterazioni aspecifiche senza un'attenta valutazione. Nelle zone endemiche, la piroplasmosi deve quindi essere considerata in diagnosi differenziale ogni qualvolta si riscontrino animali con situazioni analoghe a quelle sopra descritte. È consigliabile effettuare screening sierologici o molecolari a campione nelle aziende con alto numero di animali, al fine di individuare eventuali soggetti che necessitano di terapia, anche alla luce della possibilità che situazioni di stress possano riattivare forme temporaneamente "latenti" di piroplasmosi (Laus et al., 2015).

IPERLIPEMIA

L'iperlipemia è una patologia frequente nell'asino, così come nei Ponies e nei Miniature horses, con una prevalenza del 3-5% della popolazione totale e dell'11-18% dei ricoveri in ospedale veterinario. In base al dato di mortalità, pari al 60-80% dei soggetti colpiti, risulta facilmente comprensibile l'importanza di una adeguata opera di prevenzione. La patologia sembra più grave con l'aumentare dell'età, mentre non è riportata una diversa incidenza in base al sesso (Burden et al., 2011). La malattia è caratterizzata dall'aumento della concentrazione trigliceridi in circolo; in particolare, si parla di iperlipidemia quando l'aumento è inferiore a 500 mg/dL, il siero non è lattescente e non si osserva infiltrazione lipidica del fegato, mentre l'iperlipemia è caratterizzata da un aumento della concentrazione dei trigliceridi superiore a 500 mg/dL con un aspetto lipemico del siero e il coinvolgimento epatico di tipo infiltrativo (Divers e Barton, 2018).

La malattia è legata all'instaurarsi di un bilancio energetico negativo che porta a una mobilitazione secondaria massiva di trigliceridi dal tessuto adiposo. I fattori predisponenti sono molteplici e legati a stati fisiologici, patologici e di generale stress. Stati fisiologici in cui la richiesta energetica è alta sono sicuramente gli ultimi mesi di gravidanza o il picco lattazionario. Fattori legati allo stress possono essere ad esempio i trasporti di lunga durata. Tutte le patologie croniche caratterizzate da digiuno e/o aumento del catabolismo o rallentamento della spinta anabolica sono causa di iperlipemia. Infine, anche l'obesità è da considerarsi fattore predisponente perché caratterizzata da insulino- e leptino-resistenza (Durham et al., 2018).

In condizioni di bilancio energetico negativo, aumenta l'attività dell'HSL (Hormone Sensitive Lipase) che porta a una mobilitazione dei trigliceridi. Parallelamente abbiamo una diminuzione della concentrazione di insulina, ormone che ha la funzione tra le altre di inibire l'HSL e di stimolare la lipoprotein-lipasi (LPL) endoteliale nella sua opera di rimozione delle VLDL dal circolo verso il tessuto adiposo. I due fenomeni portano a un aumento di acidi grassi liberi e glicerolo, entrambi legati all'albumina, e acidi grassi non esterificati (NEFA) nel circolo ematico verso il fegato. In quest'organo, il glicerolo viene trasformato in glucosio, mentre gli acidi grassi liberi possono essere ossidati ad acetylCoA ed entrare nel ciclo degli acidi tricarbossilici per la sintesi di ATP, oppure essere trasformati di nuovo in trigliceridi che possono essere immagazzinati nel fegato o rientrare nel circolo sanguigno come VLDL. l'eccessiva produzione epatica di VLDL (Very Low Density Lipoprotein) e la loro insufficiente rimozione dal circolo sanguigno sono le cause di iperlipemia (Divers e Barton, 2018). La sintomatologia è caratterizzata da perdita dell'appetito, ittero, debolezza, depressione da

moderata a grave, diarrea, edemi, colica di moderata entità, febbre, fino a decubito permanente e morte. Nei casi gravi è possibile riscontrare sintomi correlati all'insufficienza epatica (Divers e Barton, 2018).

Oltre all'aumento della concentrazione dei trigliceridi, è possibile rilevare anche un aumento della concentrazione ematica di acidi grassi non esterificati (NEFA) e di VLDL. Il danno epatico è caratterizzato da un aumento dell'attività di alcuni enzimi quali l'SDH (Sorbitolo Deidrogenasi) e la GGT (Gamma Glutamil Transferasi), dall'aumento della concentrazione degli acidi biliari, della bilirubina e dell'ammoniaca e dalla riduzione della concentrazione di glucosio, albumina e urea. L'acidosi metabolica è un reperto frequente in corso di iperlipemia.

L'esame ecografico del fegato è essenziale per la valutazione della sua ecogenicità e come mezzo attraverso cui è possibile effettuare una biopsia eco-guidata che permette di raccogliere un campione significativo per l'esame istologico. La terapia prevede il ripristino del bilancio energetico, l'eliminazione della causa predisponente, la inibizione della mobilizzazione dei grassi a partire dal tessuto adiposo e il consumo di trigliceridi da parte dei tessuti periferici. Se l'animale è in insufficienza epatica, una terapia appropriata andrà ad aggiungersi a quella specifica per l'iperlipidemia. Il bilancio energetico può essere ripristinato con la somministrazione di alimento per via enterale o parenterale in base alla gravità della sintomatologia e al fatto se l'animale ha mantenuto in parte l'appetito oppure è anoressico. In particolare, se l'animale ha un parziale appetito, è possibile stimolare l'assunzione di cibo offrendo carboidrati o fieno di buona qualità o erba (Divers a e Barton, 2018). I soggetti anoressici, invece, dovrebbero ricevere glucosio al 5% in infusione continua a 2 mL/Kg/h in associazione a una nutrizione enterale con sonda naso-gastrica utilizzando formulazioni commerciali (Moore et al., 1994) o casalinghe, purchè prive di grassi (Hellebeck e Beynen, 2001). Il trattamento con insulina riduce la concentrazione di trigliceridi in circolo stimolando l'attività della LPL (Waitt e Cebra, 2009).

ORTOPEDIA

In generale, le patologie ortopediche dell'asino sono del tutto simili a quelle individuate nei cavalli, con la differenza che il 65% dei casi di zoppia è relativa al piede (Mendoza et al., 2018), probabilmente a causa di carenze nelle modalità di gestione e del tipo di lavoro in cui questi animali vengono coinvolti (Thiemann et al., 2019).

Anatomia

Dal punto di vista morfologico, gli asini possono presentare una conformazione stretta del petto che può determinare uno squilibrio del piede latero-mediale con deformità dello stesso (Thiemann et al., 2019). Rispetto al cavallo, gli asini presentano una conformazione dello zoccolo più verticale e conica, pastoie dritte, fettone ben sviluppato e suola spessa; questa conformazione garantisce facilità di cammino su sentieri stretti ed impervi (Thiemann et al., 2018 e 2019). Dal punto di vista radiografico, la terza falange è collocata più in profondità nella capsula ungueale (Thiemann et al., 2019) e lo spessore dello zoccolo è circa 25% maggiore rispetto al cavallo (Collins et al., 2011).

Pareggio

Frequentemente il piede dell'asino è trascurato nella sua cura quotidiana. Il management essenziale dovrebbe prevedere (Thiemann et al., 2018 e 2019):

- miglioramento delle condizioni ambientali in cui l'animale vive affinché il piede rimanga pulito e asciutto. Il piede dell'asino tende a trattenere acqua (Van Thielen et al., 2018),

- per cui una eccessiva umidità della lettiera o del pascolo predispongono all'imbibimento della suola e dello zoccolo indebolendone la struttura;
- pareggio ogni 6-10 settimane in relazione al carico di lavoro o all'ambiente di stabulazione.

Esame di zoppia e anestesie diagnostiche

In caso di zoppia, la visita clinica da parte del medico veterinario è fondamentale e si svolgerà con le stesse modalità previste anche per il cavallo (Thiemann et al., 2019). Il movimento in linea retta solitamente è facilmente attuabile nella maggior parte dei soggetti ed è utile nell'individuazione di problemi di equilibrio del piede latero-mediale. Il movimento in circolo, alla longia, spesso risulta difficoltoso perché gli asini non sono mai stati abituati a questo tipo di esercizio, ma quando possibile è conveniente eseguire questo esame poiché può fornire indicazioni ulteriori sulla natura della zoppia. Il test di flessione è essenziale per suscitare dolorabilità con la flessione su aree apparentemente non dolenti e per valutare il range di flessione passiva articolare. Importante, la valutazione della superficie soleare e il test con la sonda da piede, soprattutto per l'individuazione di alcune patologie, quali il cheratoma, l'ascesso subsoleare, l'ematoma subsoleare. Le anestesie diagnostiche si possono eseguire nella stessa maniera che per il cavallo.

Patologie più comuni

Gli asini non mostrano uno stato di dolore o debolezza in modo evidente come il cavallo. Questa attitudine, associata al fatto che sono animali impiegati in attività diverse rispetto alla specie equine (non attività sportive) (Morrow et al., 2011) rende l'evidenza di una zoppia meno puntuale. Segni di problemi a carico degli arti possono essere (Mendoza et al., 2018):

- posizione di stazione tendenzialmente a base larga sia dei posteriori che degli anteriori (Van Thielenet al., 2018);
- deviazioni angolari del carpo, con tendenza più frequente al valgismo, e del tarso, cosiddetti garretti a vacca;
- asse pastorale spezzato in avanti, soprattutto nei posteriori;
- squilibrio del piede dorso-plantare/palmare e latero-mediale.

Le **deformità flessorie** sono frequenti nella specie asinina, ma spesso trascurate. La conformazione prevede talloni che non supportano il peso, con angolo dell'asse pastorale spezzato in avanti, con la linea dorsale dello zoccolo che tende alla verticale (Mendoza et al., 2018; Thiemann et al., 2019). Se non trattate, le deformità flessorie progrediscono nella contrattura dei tendini flessori digitali, con il dorso del piede che tende a piegarsi oltre la verticale. Il trattamento prevede ferrature correttive previa esecuzione di studio radiografico per la valutazione di eventuali alterazioni angolari della base ossea e articolare. Nei casi gravi si richiede l'intervento chirurgico con la resezione delle strutture tendinee (Mendoza et al., 2018; Thiemann et al., 2019).

La **laminite** è patologia comune fra gli asini. Frequentemente diagnosticata troppo tardi, questa presenta diversi fattori di rischio fra cui la sindrome metabolica equina, la disfunzione della pars intermedia dell'ipofisi, l'eccessivo consumo di carboidrati, il sovraccarico meccanico (Mendoza et al., 2018). I segni clinici possono variare dalla modificazione di andatura al passo, con un animale che si dice "cammina sulle uova" (andatura lenta ed incerta), cambio frequente del peso dal un piede all'altro, riluttanza al movimento, fino al decubito prolungato o l'impossibilità della stazione quadrupedale. Altri segni clinici individuabili all'ispezione e palpazione del piede sono la presenza di segni di alterata crescita dell'unghia, come ad

esempio le cerchiature, polso digitale martellante, calore del piede a livello della benda coronaria, sensibilità della suola al sondaggio del piede, presenza di ascessi sub-soleari frequenti e mancanza di concavità della suola (Mendoza et al., 2018). La diagnosi è di tipo clinico e radiografico (Collins et al., 2011). Il trattamento per la laminite prevede, oltre alla risoluzione della causa predisponente, il riposo adiuvato da una lettiera alta e morbida, il controllo del dolore, solitamente con associazione di diversi antidolorifici quali per esempio FANS e oppioidi, l'idroterapia locale, il supporto meccanico con ferrature adeguate (Mitchell et al., 2015; Mendoza et al., 2018; Thiemann et al., 2019). Nei casi gravi si ricorre all'intervento chirurgico, con la nevrectomia dei nervi digitali palmari e/o la tenotomia del tendine flessore digitale profondo.

La **malattia della linea bianca** consiste in un'infezione con progressiva separazione delle lamelle dello zoccolo dal derma parietale. Ha origine dalla suola e si può estendere prossimamente. È spesso associata ad ambienti umidi (Thiemann et al., 2019).

Gli **ascessi sub-soleari** sono una patologia comune dovuta ad una scarsa cura del piede, a eccessiva umidità del terreno, a scarsa igiene della lettiera o paddock. I segni clinici sono zoppia, dolore al sondaggio del piede; spesso è visibile il tragitto fistoloso a livello della benda coronaria e della suola. Il trattamento prevede riposo, bendaggio con sostanze astringenti, antisettici locali, drenaggio ed antidolorifici (Mendoza et al., 2018). Un caso particolare è l'ascesso della linea bianca frequentemente associata alla sopraccitata malattia della linea bianca, che indebolisce le strutture lamellari e favorisce la penetrazione di corpi estranei o infezioni (Thiemann et al., 2019).

Il **piede "lungo"** o scorretto pareggio corrisponde a situazioni dove il piede è trascurato e dove l'unghia è continuata a crescere senza essere consumata o pareggiata (Mendoza et al., 2018). Nei casi gravi, la punta dello zoccolo ruota e si curva verso l'alto, con l'aspetto a ciabatta turca. L'eccessiva crescita può essere tale da determinare iperestensione dei tendini flessori digitali e delle articolazioni falangee. Prima del pareggio sono necessarie indagini radiografiche per valutare la posizione della terza falange o evidenziare segni di rimodellamento o danno osseo (Mendoza et al., 2018). Se non ci sono alterazioni ossee, di solito lo zoccolo torna alla forma normale con pochi pareggi consecutivi (Mendoza et al., 2018; Thiemann et al., 2019).

Le **fratture della terza falange** possono verificarsi, ma non sono così frequenti come nel cavallo. (Thiemann et al., 2019).

Il **cheratoma** è una lesione simil-tumorale benigna caratterizzata da ipertrofia e iperplasia delle cellule epidermiche della benda coronaria e del *corium* soleari e probabilmente secondaria a pressione eccessiva o irritazione meccanica croniche. La diagnosi è basata sui segni clinici e la conferma è radiografica e istologica. Se il cheratoma si localizza a livello della linea bianca, si può avere una deformità di quest'ultima e della capsula ungueale, un'alterazione del colore delle lamine della linea e ascessi che recidivano. Il trattamento è chirurgico e prevede la rimozione della massa. La lesione può essere ricorrente (Thiemann et al., 2019).

Negli **asini da lavoro** possono essere diagnosticate patologie a carico di tendini, legamenti e guaine sinoviali (Reix et al., 2014), ma anche alterazioni vertebrali, come la protrusione di dischi intervertebrali e artrosi articolare, secondarie al sovraccarico (Drouard et al., 2003).

Spesso negli **asini anziani** si riscontra artriti della spalla, della colonna e dell'anca, spesso la diagnosi è post-mortem (Morrow et al., 2011). I segni clinici più frequenti sono riluttanza a sollevare gli arti e perdita della massa muscolare rispettivamente della spalla e del treno posteriore, andatura lenta e riluttante, difficoltà a sdraiarsi e alzarsi (Thiemann et al., 2018).

PATOLOGIE GASTROINTESTINALI E LA SINDROME COLICA NELLA SPECIE ASININA

Comprendere il comportamento stoico degli asini è fondamentale per interpretare la severità dei segni clinici. Questo è rilevante soprattutto nelle patologie che interessano il tratto gastroenterico, in quanto in diversi casi queste possono mettere a rischio la vita dell'animale stesso (Thiemann et al., 2017; Thiemann e Sullivan, 2019). Sono ampiamente riconosciute differenze fondamentali con i cavalli. Per esempio, gli asini possiedono una forte attitudine come specie preda, quindi tendono a mascherare il dolore efficacemente, soprattutto quello da lieve a moderato o il dolore cronico. Sono molto sensibili alla vita in gruppo e spesso possono andare incontro a stress se non accompagnati da un fedele compagno, perciò è raccomandato trasportare il paziente malato sempre con un "amico". Inoltre, bisogna considerare che sono animali adattati a condizioni desertiche, perciò tollerano meglio la disidratazione e la conseguente emocoagulazione rispetto ai cavalli (Thiemann e Sullivan, 2019). È, quindi, frequente riconoscere i segni clinici una volta che sia trascorso già il tempo necessario affinché la patologia abbia determinato un coinvolgimento sistemico (Thiemann et al., 2017).

Anatomia

Di seguito sono riportate le principali differenze anatomiche fra cavallo e asino relative al tratto gastroenterico (Thiemann et al., 2017):

- Il volume massimo che può contenere lo stomaco in un asino di circa 180 kg è di 3L;
- Per ogni 100 kg di peso presentano circa 6 m di piccolo intestino, 10 cm di colon trasverso, 1 m di piccolo colon; per il resto sono del tutto simili ai cavalli;
- Presentano muscoli ventrali del collo molto sviluppati, per sostenere il peso della testa. Per questo motivo presentano un solco giugulare meno definito e la vena meno esposta, conseguentemente le iniezioni venose possono risultare complesse;
- Elevata resistenza alla disidratazione. Normalmente urinano meno frequentemente dei cavalli e possono mantenere un volume ematico normale anche in caso di forte disidratazione. Perciò anche la plica cutanea non è attendibile come segno;
- Grande capacità di riassorbire i liquidi a livello del cieco. Talvolta, anche in caso di coliti, la quantità di diarrea può essere minore alla norma, per la grande capacità di riassorbimento di acqua;
- Per kg di massa corporea hanno bisogno di una quantità inferiore di materia secca perché hanno un'elevata capacità digestiva. Di conseguenza presentano un transito gastroenterico più lento che nei cavalli, così anche lo svuotamento gastrico;
- Il microbioma intestinale non è ancora stato studiato ma si presume abbia delle differenze sostanziali con i cavalli.

Esame clinico

Dati i segni clinici spesso subdoli, sarà importante una raccolta dell'anamnesi e dei dati segnaletici accurata e puntuale, così come un attento esame clinico. Questo si compone delle seguenti fasi (Mendoza et al., 2018; Thiemann e Sullivan, 2019):

- valutazione dello stato del sensorio e della condizione corporea;
- rilevazione di temperatura rettale, frequenza cardiaca e respiratoria;
- auscultazione dei quadranti gastroenterici, rilevazione del polso digitale e temperatura digitale, valutazione delle mucose e del tempo di riempimento capillare;
- palpazione rettale: da eseguire sempre anche se necessario somministrare sedativo/spasmodolitico;

- passaggio della sonda naso gastrica: da preferire dimensione della sonda per cavalli piccoli/pony;
- esecuzione dell'esame ecografico: lo spesso mantello e al grasso sottocutaneo possono determinare interferenza degli echi
- esecuzione esame radiografico qualora dove necessario;
- esame delle feci, presenza di endoparassiti, materiale poco digerito, sabbia;
- in caso di animali con diarrea, valutare anche la frequenza, la quantità e la consistenza delle feci;
- esaminare i denti;
- valutare sempre le corrette procedure di profilassi (perché spesso inadeguata): il controllo parassitario, vaccinazioni e controllo della tavola dentaria.

Segni di dolore colico

Dato il carattere di resistenza, la scala del dolore addominale nell'asino è inappropriata. I segni clinici più frequentemente riscontrati sono di seguito elencati (Mendoza et al., 2018; Haines e Goliszek, 2019; Thiemann e Sullivan 2019):

- diminuzione dell'interesse verso l'ambiente circostante, inattività;
- abbattimento, nel 90% di casi di costipazione (Thiemann et al., 2017), ottundimento del sensorio, posizione delle orecchie fissa orizzontale o rivolta indietro;
- isolamento dal branco;
- posizione della testa al disotto del garrese;
- disinteresse verso il cibo, disappetenza;
- digrignare i denti;
- guardarsi il fianco, scuotere la testa;
- decubito sternale prolungato, raramente tendenza a rotolarsi;
- frequenza cardiaca: se tra 58-70 bpm è indicativa di dolore moderato, se superiore a 70 bpm è indice di dolore grave (Thiemann et al., 2017).

La perdita di peso spesso è l'unico segno clinico di patologia cronica (Mendoza et al., 2018). Da non sottovalutare, la possibilità di insorgenza di iperlipemia in caso di colica che spesso può aggravare la prognosi (vedi capitolo iperlipidemia).

Patologie del tratto gastro-enterico

Come il cavallo, anche l'asino può essere affetto da **sindrome ulcerativa** (EGUS, Equine Gastric Ulcer Syndrome). Lo stress, causato ad esempio da isolamento forzato dal branco, separazione fra madre e puledro, un lungo trasporto o introduzione in un branco nuovo, può essere un fattore predisponente, così come l'utilizzo di alcuni farmaci (FANS o corticosteroidi) o patologie caratterizzate da digiuno (Mendoza et al., 2018). Nell'asino la forma di EGUS preponderante sembra quella che colpisce la parte squamosa (ESGD, Equine Squamous Gastric Disease) dove le lesioni sono evidenziabili soprattutto sul *margo plicatus* e intorno al *cardias*. Non sembrano sussistere differenze in base a sesso e età, né la presenza di larve di *Gasterophilus intestinalis* (Sgorbini et al., 2018). Il trattamento prevede l'uso dell'omeprazolo con protocolli extrapolati dalla medicina equina (Sykes et al., 2015).

Le **patologie a carico del piccolo intestino** sono del tutto simili a quelle identificate per il cavallo. Tendenzialmente presentano un numero inferiore di incidenza per lipomi strangolativi (Thiemann e Sullivan. 2019). La colica da costipazione presenta un'alta morbilità (prevalenza del 50%) (Mendoza et al., 2018) e mortalità. La flessura pelvica è il principale sito di costipazione, ma sono coinvolti anche il colon trasverso e il cieco (Thiemann e Sullivan, 2019). La costipazione è associata all'avanzare dell'età, a problemi della dentizione, alla pre-

senza di enteroliti per alimentazioni spesso ricche di fieno alfa alfa o scarso accesso ad acqua (Mendoza et al., 2018). I segni clinici associati sono subdoli e spesso gli asini continuano ad alimentarsi fino a quando la costipazione non è severa. Spesso è associata condizione di disidratazione e iperlipemia per anoressia. Il trattamento prevede fluido terapia enterale associata a somministrazione di lassativi osmotici e lubrificanti, fluido terapia parenterale, soprattutto per ristabilire l'idratazione e la perfusione renale, uso di antidolorifici e antiendotossiemici, controllo dell'alimentazione per favorire la motilità intestinale e scongiurare l'istaurarsi di iperlipemia (Thiemann e Sullivan, 2019).

Le **coliti** determinano segni clinici come abbattimento, febbre e a volte diarrea, ma anche morte improvvisa per coliche iperacute, oppure perdita di peso e edema ventrale per coliti croniche, con associata enteropatia proteinodisperdente (Thiemann e Sullivan, 2019). L'eziologia è da ricercarsi nell'infestazione da ciatostomidi, infezione da salmonella e clostridi, intossicazione da micotossine alimentari (Thiemann et al., 2017). Il trattamento è del tutto simile a quello utilizzato nella specie equina.

Le **patologie epatiche** possono essere difficilmente riconosciute, sono spesso reperto occasionale. I segni clinici sono (Thiemann e Sullivan, 2019) perdita di peso come segno più frequente, colica, dismotilità, depressione associata a cambio di atteggiamento, ittero, febbre. La diagnosi è difficile, poiché spesso sono casi sub-clinici con insorgenza lenta. La diagnosi, oltre alla valutazione dei sintomi, si basa sulle analisi di laboratorio volte a evidenziare aumento dell'attività degli enzimi epatici e/o alterazione della capacità di sintesi epatica (ad esempio diminuzione proteine della coagulazione e albumina, diminuzione urea e aumento ammonio, aumento acidi biliari e bilirubina) (Divers e Burton, 2018). L'ecografia è molto utile perché ci fornisce informazioni sull'architettura epatica e sulla gravità di infiltrazione (ad esempio infiammatoria, lipidica), sulla presenza di lesioni focali e sulle loro dimensioni. La biopsia eco-guidata permette di raccogliere campioni per l'esame isto-patologico che fornisce indicazioni sul danno tissutale epatico (Thiemann et al., 2017). Il trattamento è sovrapponibile a quanto si applica nel cavallo (Divers e Burton, 2018).

Considerazioni chirurgiche

A causa del mascheramento dei segni clinici in corso di colica, spesso si arriva ad una decisione di tipo chirurgico quando le condizioni sistemiche del paziente sono già molto compromesse (Thiemann e Sullivan, 2019). È raccomandata, quindi, un'accurata valutazione clinica del paziente avvalendosi anche della valutazione del lattato ematico e peritoneale come indici diagnostici e prognostici (Thiemann e Sullivan, 2019) ed esame ecografico. Gli interventi chirurgici per colica possono aver un esito più sfavorevole rispetto al cavallo per diverse motivazioni, quali ad esempio deperimento delle condizioni cliniche per il facile istaurarsi di iperlipemia, laminite, deperimento generale secondario a stress per restrizione e isolamento dal branco.

MALATTIE DERMATOLOGICHE PRORIGINOSE

Malattie batteriche

Le malattie batteriche più frequenti sono sostenute da batteri commensali o transitori della pelle degli equidi come *Stafilococcus aureus* e *S. pseudointemedius*, occasionalmente da *Streptococcus* spp o dal contagio con *Dermatophilus congolensis*. Le condizioni igieniche, lo stato di nutrizione, punture di insetti e altre malattie dermatologiche sono le cause predisponenti. Il prurito non è generalmente molto intenso, ma in alcuni casi può essere evidente e causare di autotrauma. Le piodermiti da stafilococchi si manifestano come follicolite super-

ficiale o profonda, quindi le lesioni principali sono papule e in casi più rari foruncoli. Queste possono essere associate alla presenza di croste sierocellulari chiare, alopecia multifocale o distrettuale e tendere alla confluenza sino ad assumere l'aspetto di vaste placche irregolari. Le aree più colpite sono quelle dorsali: collo, dorso e tronco. Nei soggetti che vivono su lettiere umide e con deiezioni l'unico sintomo può essere la Dermatite dei pastorali che coinvolge in particolare le aree posteriori dei carpi e tarsi. La dermatite inizia come una semplice follicolite, ma se non riconosciuta in tempi rapidi, provoca la formazione di vaste aree suppurate, ulcerate, ricoperte da croste spesse ed in grado di far zoppicare il soggetto colpito. Le infezioni da streptococchi si manifestano più raramente e provocano la comparsa di lesioni purulente con croste molto aderenti e talvolta dolenti in particolare sulle aree dorsali.

La pododermite da *D. congolensis* è un'infezione trasmessa da soggetti con malattia cronica non apparente e si sviluppa nei soggetti che sono venuti in contatto con le zoospore del batterio tramite fomi, punture di insetti e piccole lesioni di continuo. L'infezione si sviluppa in particolare dopo piogge prolungate in più soggetti tenuti all'aperto quando la pelle è costantemente bagnata. Le lesioni iniziali sono tondeggianti di diametro di 1-4 cm evidenti come croste che coinvolgono il manto e quando asportate risultano spesse e lasciano esposta un'area ulcerata con pus giallo oca. Queste lesioni possono tendere alla coalescenza e diventare vaste. Le aree più colpite sono le dorsali e le parti distali degli arti. La diagnosi in entrambi le infezioni si basa sul rilievo delle lesioni, loro distribuzione, sulla esclusione di altre cause e sull'esame batteriologico. Nel caso dell'infezione da *D. congolensis* l'esame citologico può permettere l'osservazione di doppie catene di cocci disposte a binario che sono molto particolari se non uniche tra le malattie batteriche.

Il trattamento delle pododermi si basa sul miglioramento delle condizioni igienico-ambientali, eliminazione delle cause predisponenti quando riconoscibili sull'uso di prodotti topici e sul trattamento sistemico con antibiotici. La tosatura, la shampoo-terapia con principi attivi come clorexidina, etil lattato e benzoile perossido coadiuva e può abbreviare la durata della terapia sistemica. Gli antibiotici più utilizzati sono il trimetoprin-sulfametossazolo, la penicillina ed in genere tutte le betalattamine e i fluorochinoloni.

Tricofitosi

Le malattie fungine sono sostenute da *Tricophyton equinum* var. *equinum* e meno frequentemente da *T. verrucosum* (in particolare se in vicinanza di allevamenti di bovini), *T. mentagrophytes* e più raramente dal genere *microsporium* sp. Possono essere causa di prurito in particolare nelle prime fasi dell'infezione. Il contagio avviene tramite le artrospore per contatto diretto o tramite fomi e i soggetti giovani sono i più colpiti. Le lesioni all'esordio creano un'orripilazione circolare di 1-2 cm di diametro, dopo pochi giorni residua un'area alopecica ricoperta da scaglie o sottili croste di colore argenteo. Le lesioni spesso tendono alla coalescenza sino a formare aree alopeciche vaste e irregolari in particolare site su ascelle, torace, tronco e meno altrove. La diagnosi differenziale è ampia e la conferma si ha solo tramite l'esame colturale dei peli e croste. È raccomandabile prelevare i campioni tal quali e anche dopo aver sgrassato la pelle con alcool. Il trattamento sistemico non è conveniente e nella maggior parte dei casi è sufficiente usare prodotti locali a base di miconazolo o enilconazolo.

Rogne corioptica e psoroptica

Sono sostenute dal *Corioptes equi* e meno frequentemente dallo *Psoroptes equi* ed entrambi sono molto pruriginose e possono contagiare più soggetti della stessa scuderia. La rogna corioptica è più frequente in inverno e nei soggetti con manto lungo. I segni principali sono il prurito e l'irrequietezza, le aree più coinvolte sono le parti distali degli arti, le ascelle e l'inguine. Gli asini tendono a mordersi e strofinarsi su oggetti. Il risultato dell'autotrauma è l'a-

lopecia, la lichenificazione e le escoriazioni. Nella rogna psoroptica il prurito è meno grave che nella corioptica è localizzato nelle parti superiori del corpo come orecchi, criniera dorso e base della coda. In entrambi i casi la diagnosi può essere confermata solo con l'osservazione dei parassiti adulti o uova all'esame microscopico dello scarificato superficiale di più punti colpiti. Il trattamento con lattoni macrociclici è molto efficace.

Pediculosi

I pidocchi degli equidi sono la *Damalinia equi* (*Werneckeniella* sp) e l'*Haematopinus asini*, entrambi sono causa di intenso prurito e vaste alopecie in più soggetti conviventi in particolare nei mesi invernali. L'infestazione da *D. equi* è molto più comune di quella da *Haematopinus equi* provoca solo prurito e alopecia da autotrauma su parte caudale del collo, dorso, tronco. L'*H. asini* predilige il collo e gli arti e oltre ai sintomi sopradescritti può essere causa di anemia perché si nutre di sangue. La diagnosi è semplice perché sia i parassiti adulti che le lendini sono visibili ad occhio nudo. È consigliabile cercarli ai margini delle aree alopeciche e nel caso di dubbio possono essere prelevati ciuffi di peli e cercate le lendini al microscopio a basso ingrandimento.

Il trattamento può essere eseguito con fiproline, piretrine e organofosforici, nel caso dell'*H. asini* le avermectine sono molto efficaci.

Ipersensibilità e prurito da punture di insetti

Nei mesi caldi gli asini sono esposti alle punture di molti insetti quali *Culicoides* sp, *Simulium* sp sp, *Stomoxys* sp, *Musca* sp che in alcuni soggetti possono nel tempo provocare fenomeni di ipersensibilità e dermatiti molto pruriginose. Tuttavia, nelle aree dove gli insetti sono molto numerosi anche le punture di per se possono essere causa di intenso prurito ed autotrauma. I segni clinici sono variabili tra i soggetti. Il prurito è prettamente estivo nei climi temperati, ma le conseguenze della dermatite come l'alopecia e la lichenificazione possono negli anni rimanere permanenti. La localizzazione delle punture dipende dal tipo di insetto pungitore. In Italia la maggior parte dei culicoidi e simulidi punge nelle aree del collo a ridosso della criniera, sul dorso, nelle aree ventrali dell'addome, la base della coda e arti. Le mosche tendono a pungere in particolare le parti distali degli arti. Le lesioni secondarie al processo flogistico e l'autotrauma sono l'alopecia, le escoriazioni, le croste, talvolta l'ipopigmentazione e nei casi cronici la lichenificazione. Nei soggetti a manto lungo in particolare i generi *Stomoxys* sp e *Musca* sp possono provocare gravi fenomeni infiammatori e prurito a ridosso dei carpi e tarsi che esitano in aree escoriate-ulcerate che si ricoprono di spesse croste sierocellulari miste a detriti.

Il trattamento è frustrante perché il prurito non è facilmente controllabile anche con cortisonici. Il controllo ambientale prevede la frequente rimozione delle feci dalle concimaie, l'uso di presidi farmacologici a trappola per le mosche sugli animali l'uso di piretrine *long acting*, la disinfezione delle aree con escoriazioni per evitare infezioni secondarie e l'applicazione di pomate contenenti piretrine per proteggere le aree escoriate o ulcerate.

SARCOIDE

Il sarcoide è il più comune tumore della pelle degli equidi. È una forma neoplastica di origine fibro-epiteliale descritta per la prima volta nel 1936 da Jackson in Sud Africa. È molto aggressiva, con elevate capacità di invasione del derma, ma incapace di dar origine a metastasi vere e proprie (Pascoe e Knottenbelt, 1999). In una recente indagine epidemiologica svolta negli USA e in Canada sulla prevalenza dei tumori nell'asino, quelli a carico della pelle sono

risultati l'88% ed il sarcoide il 72%. Considerando che l'82% dei tumori cutanei è risultato il sarcoide, è ipotizzabile che nella specie asinina questa neoplasia abbia una prevalenza superiore a quella riconosciuta nel cavallo (Scott, 2003; Davis, 2016).

Eziologia

L'associazione sarcoide e papillomavirus bovino (BPV 1 e 2) è stata dimostrata sin dagli anni Cinquanta (Olson e Cook, 1951; Voss, 1969) e la presenza del DNA di BPV dimostrata tramite PCR è stata rilevata nella quasi totalità dei sarcoidi degli equidi (Bogaert, 2008), ma non sono mai stati isolati virioni intatti dalle lesioni. La presenza di DNA del BPV è stata rilevata anche nei monociti circolanti di equini ammalati e sebbene non sia probabile una trasmissione orizzontale dell'infezione è possibile la trasmissione verticale e la disseminazione in più aree dell'individuo.

Le modalità di trasmissione non sono state ancora chiarite, ma il contagio potrebbe avvenire tramite puntura di insetti vettori o soluzioni di continuo dopo il contatto con fomiti (Brant, 2008).

I fibroblasti infettati dal BPV subiscono trasformazioni del citoscheletro e dell'apparato del Golgi. Queste sono operate in particolare dall'espressione dell'oncoproteina del virus E-5 identificata quale responsabile dell'attivazione di kinasi del recettore del fattore di crescita cellulare con successiva trasformazione e moltiplicazione incontrollata (Ashrafi et al., 2002).

Aspetti clinici

Il comportamento clinico cambia molto da soggetto a soggetto e talvolta, nel tempo, nello stesso individuo. Il numero delle lesioni è estremamente variabile, da una singola a più di cento e tanto la sua capacità infiltrativa che l'eziologia, lo rendono difficile da trattare. Lo stesso vale per le dimensioni e l'estensione dell'area colpita. Il sarcoide può rimanere stabile per anni e poi invadere le aree periferiche molto rapidamente. Sebbene non sia di per sé letale può essere causa di invalidità e ragione di eutanasia (Pascoe e Knottenbelt, 1999). L'età media alla diagnosi è risultata di 7 anni, ma con un intervallo molto ampio dall'uno ai trenta anni. La prevalenza tra i sessi è di 1,8 ad 1 a favore dei maschi, ma le femmine tendono statisticamente ad ammalarsi in età più giovane rispetto a castroni e stalloni. Nell'asino, la localizzazione del sarcoide in ordine di prevalenza è risultata la testa 50%, la regione inguinale 23,3%, il tronco 15%, gli arti 8,3% e la coda 3,3%. Dei sarcoidi che affliggono la testa, il 47% era localizzato nella regione peri-orbitale, che in assoluto è l'area più difficile da trattare. La localizzazione nella regione inguinale colpisce con una prevalenza pressoché assoluta i maschi (Davis, 2016).

In un'indagine compiuta su 100 asini in Egitto le forme di sarcoidi rilevati sono state solo quattro: Verrucoso, Nodulare, Fibroblastico e Misto (Mohamed, 2012).

Sarcoide verrucoso

Osservato in particolare su testa, collo, tronco, inguine e ascelle. Frequentemente colpisce aree vaste con una o più lesioni sessili o pedunculato che tendono alla coalescenza ed è caratterizzato da alopecia, placche/noduli di aspetto e dimensioni variabili, con superficie molto irregolare e keratotica. La diagnosi differenziale vede l'esclusione della papillomatosi, della sarcoidosi equina, del carcinoma cellulare e delle dermatiti da ipersensibilità alla puntura d'insetti, culicoidi in particolare.

Sarcoide nodulare

Osservato in particolare su palpebre, inguine e prepuzio. La lesione tipica è il nodulo tondo, dermoepidermico, molto consistente, talvolta ricoperto da pelle apparentemente sana se

di piccole dimensioni, altrimenti ulcerato. Nella stessa area possono essere presenti molti noduli di differente grandezza, aspetto e tendenti alla coalescenza. Diagnosi differenziale ampissima con tutte le malattie dermatologiche in grado di provocare la formazione di noduli e in particolare i melanomi e i granulomi eosinofili.

Sarcoide fibroblastico

Si osserva soprattutto su inguine, palpebre e parti distali degli arti. Si forma frequentemente su ferite lacere o chirurgiche. È caratterizzato da una lesione pedunculata o sessile, spesso singola, con superficie irregolare. Questo tipo di lesione può diventare voluminosa e spesso si ulcera.

Sarcoide misto

Tutte le forme precedentemente descritte possono essere presenti contemporaneamente. In genere si tratta di sarcoidi occulti o verrucosi in trasformazione fibroblastico/nodulare. È una forma molto aggressiva con lesioni di grandi dimensioni ed estensione che può essere la conseguenza di traumi o interventi chirurgici su lesioni pregresse. L'aspetto è molto tipico e la diagnosi differenziale vede solo l'Habronemiasi se su parti distali degli arti con vasta e profonda ulcerazione.

Diagnosi

La diagnosi viene emessa in base all'anamnesi e comportamento clinico della/e lesioni, aspetto, localizzazione e esclusione di altre malattie. La conferma del sospetto diagnostico è possibile solo con l'istopatologia della lesione prelevata con chirurgia tradizionale o biopsia. In alternativa, l'esame citologico per agoaspirazione di lesioni tipiche può essere considerato un valido screening. Sfortunatamente queste pratiche (e anche i traumi accidentali) sono causa di aggravamento della neoplasia probabilmente per la disseminazione di BPV nelle aree periferiche l'escissione o microtrauma. Per questo motivo se la lesione è quiescente, converrebbe non sottoporla a manipolazioni di nessun genere o in alternativa eseguire i prelievi solo se si è pianificato di intraprendere il trattamento medico e chirurgico del tumore.

Trattamento

Il trattamento prevede ove possibile, l'asportazione chirurgica con grande margine di escissione in combinazione con trattamenti medici. La letteratura corrente riporta come "non stabilito" il numero delle recidive di singoli sarcoidi di limitate dimensioni dopo il trattamento chirurgico tradizionale. Le statistiche attendibili sono state pubblicate solo da studiosi di università o grandi cliniche cui sono riferiti in particolare casi gravi o recidivanti. In linea di massima il numero di recidive a distanza di 6 mesi dopo chirurgia tradizionale, crioterapia, ipertermia e laser terapia variano dal 50% al 72% (Scott Miller 2003) se non associate a terapia medica.

Chemioterapia

Il trattamento medico può essere eseguito direttamente su piccole lesioni o poco dopo la riduzione chirurgica. I proprietari devono essere informati sulle potenziali recidive e che tutti i trattamenti anche quando efficaci, provocano ulcerazioni e necrosi del tessuto tumorale con conseguente flogosi, dolore della parte e talvolta febbre. È indicata in particolare per i sarcoidi nodulari e fibroblastici.

Bleomicina: è un antibiotico antineoplastico che viene iniettato nell'interno del tumore dopo diluizione di 15 mg in 20 ml di acqua bidistillata sterile alla dose di 1 ml di soluzione per 1 cm di diametro della lesione. L'iniezione può essere dolorosa, pertanto prima del trattamento il soggetto deve essere lievemente sedato e iniettata lidocaina alla periferia della/le lesioni. Il trattamento prevede 1-5 iniezioni a distanza di 1-2 settimane in base alla risposta. I sarcoidi che rispondono meglio a questa procedura sono quelli con dimensioni inferiori ai 2,5 cm.

Cisplatino: è una emulsione da iniettare alla dose di 1 mg per 1 cm cubo di tessuto per 4 volte a distanza di 2 settimane. Può essere difficoltoso da iniettare in sarcoidi nodulari molto consistenti.

Immunoterapia

Viene eseguita con una preparazione oleosa contenente il bacillo di Calmette-Guèren intero attenuato o estratti della parete di micobatterio modificato. È efficace in particolare nei sarcoidi peri-palpebrali e meno negli altri. Le iniezioni vanno praticate nelle lesioni ogni 2-3 settimane per 4-5 volte, pretrattando l'animale con flunixin meglumine o cortisonici. Sono stati riportati alcuni casi di anafilassi (informare il proprietario). È indicata in particolare per i sarcoidi nodulari e fibroblastici.

Prodotti per uso topico

Sono indicati per tutte le forme di sarcoidi.

Imiquimod 5%: viene usato per il trattamento dei papillomi virali dei genitali dell'uomo. Deve essere applicato sulla parte 3 volte la settimana per un massimo di 16 settimane, dieci ore dopo l'applicazione l'area dovrebbe essere lavata con sapone. È di facile reperibilità in commercio, ma è consigliabile su lesioni di estensione limitata.

AW-4LUDES: contiene percentuali variabili di arsenico inorganico, antimonio, sali di mercurio etc. Viene venduto dalla facoltà di Veterinaria di Liverpool previo invio un modulo contenente il segnalamento e informazioni cliniche corredate da foto della/le lesione/i. È facilmente applicabile ed il protocollo del trattamento viene individualizzato.

XXTERRA: è una pasta contenente cloruro di Zn e *Sanguinaria canadensis* da applicare ogni 4 giorni sino a scomparsa della lesione.

Radioterapia: teleterapia o brachiterapia sono state usate con successo nel trattamento del sarcoido equino, ma hanno lo svantaggio del costo e della difficoltà di reperire strutture specialistiche dove ricoverare il soggetto per un periodo congruo alla eliminazione degli agenti radianti.

IL PULEDRO

La rapidità di adattamento del neonato è considerata un fattore critico per la sopravvivenza del puledro considerato che il tasso di mortalità neonatale può raggiungere l'1,7% nelle 48 ore successive al parto. Generalmente, un puledro sano si adatta velocemente alla vita extrauterina ed è in grado di assumere la stazione quadrupedale, seguire la madre e attaccarsi alla mammella entro poche ore dalla nascita (Bonelli et al., 2019). Per lungo tempo, in assenza di specifici riferimenti sul puledro asinino, sono state considerate appropriate le informazioni circa le caratteristiche fisiologiche e le strategie terapeutiche comunemente impiegate nel puledro della specie equina. In anni più recenti, tuttavia, numerosi studi hanno contribuito a migliorare le conoscenze sulla fisiologia dell'asino nel periodo neonatale, evidenziandone ana-

logie e differenze con la specie equina (Panzani et al., 2012; The Donkey Sanctuary, 2018). La possibilità di avvalersi dunque di intervalli di riferimento circa parametri vitali (indice di Apgar), ematologici e biochimici specifici, consente al medico veterinario una migliore valutazione clinica del puledro asinino affetto da patologia neonatale (Bonelli et al., 2019; Veronesi et al., 2014).

Il neonato prematuro

Considerata la notevole variabilità nella durata della gestazione dell'asina che oscilla dai 360 ai 370 giorni, differenziare i soggetti prematuri, ovvero nati pretermine, da quelli dismaturi, cioè quei soggetti che presentano un grado di sviluppo ridotto rispetto all'età gestazionale, può essere difficoltoso. Generalmente, i puledri prematuri, più piccoli e deboli rispetto ai puledri nati a termine, presentano orecchie pendule e rivolte all'indietro, lassità flessorie, e stentano ad assumere la stazione quadrupedale. Caratteristica comune ai soggetti prematuri e dismaturi, ma non solo, è l'ipotermia, condizione che il puledro asinino è più predisposto a sviluppare rispetto al puledro equino (Orsini e Divers, 2014; The Donkey Sanctuary, 2018).

La ritenzione di meconio

La sintomatologia clinica e il trattamento della ritenzione di meconio sono simili a quanto riportato per il puledro equino. L'animale manifesta dolore addominale e assume frequentemente atteggiamenti di defecazione senza emissione di feci. La diagnosi è generalmente confermata dal rilevamento di meconio nel retto e nel piccolo colon distale tramite palpazione digitale per via trans-rettale, o tramite esame radiografico ed ecografico in caso di occlusioni intestinali più prossimali. La terapia prevede l'impiego di clisteri con acqua tiepida e sapone, o utilizzando una soluzione a base di acqua tiepida e acetilcisteina al 4% (100-200 ml) da infondere per gravità nel retto mediante un catetere di Foley da lasciare in situ per circa 30 minuti (Orsini e Divers, 2014; The Donkey Sanctuary, 2018).

Il mancato trasferimento dell'immunità colostrale

Tra le cause principali di mancato trasferimento dell'immunità colostrale sono da annoverare la presenza di colostro di scarsa qualità o quantità insufficiente o l'incapacità del puledro di assumerlo laddove ad esempio non esibisca il riflesso di suzione. Come per il cavallo, anche per il puledro asinino il trasferimento dell'immunità passiva è considerato ottimale con concentrazioni di IgG sieriche >800 mg/dL e insufficiente con IgG sieriche <200 mg/dL dosate a 24 ore dalla nascita. In quest'ultimo caso, è opportuno somministrare del colostro di buona qualità se il puledro ha mantenuto il riflesso della suzione; in alternativa è possibile, seppur costoso, effettuare una trasfusione di plasma iperimmune (da 3 a 20 ml/kg) (Orsini e Divers, 2014).

La setticemia neonatale

La sepsi è una delle principali cause di debolezza e incapacità di alimentarsi del puledro neonato anche nella specie asinina (The Donkey Sanctuary, 2018). La setticemia, che nei casi più gravi può esitare in uno shock settico, è generalmente sostenuta da microrganismi quali *E. coli*, *Actinobacillus* spp, *Pasteurella* spp, *Klebsiella* spp e *Salmonella* spp. Le forme setticemiche dei puledri con diarrea sono frequentemente associate a infezioni da *Streptococcus* spp. ed *Enterococcus* spp. Anche infezioni virali da EHV-1 (Herpesvirus Equino 1) e EVA (arterite equina) possono causare sepsi nel puledro neonato, sebbene il controllo sanitario degli stalloni abbia ridotto drasticamente i casi di setticemia neonatale da EVA. Gli animali setticemici si presentano letargici, mantengono testa e orecchie basse e il muso può essere spor-

ca di latte per i tentativi infruttuosi di attaccarsi alla mammella (cosiddetta “milk face”). Con il progredire della sepsi, il puledro presenterà segni di disidratazione, tachicardia, tachipnea, mucose iperemiche e tenderà a mantenere la posizione di decubito laterale prolungato a causa dell'estrema debolezza (Orsini e Divers, 2014). La terapia antibiotica prevede l'impiego di molecole ad ampio spettro da somministrare per via parenterale, sulla base dell'esame batteriologico e dell'antibiogramma specifico. La terapia di supporto comprende fluidoterapia, nutrizione parenterale o alimentazione tramite sonda nasogastrica associate al trattamento per la prevenzione dell'ulcera gastrica con omeprazolo (2-4 mg/kg q24h) e sulcralfato (20 mg/kg PO q6h) (Orsini e Divers, 2014; The Donkey Sanctuary, 2018).

La carenza di vitamina E e selenio

La white muscle disease (WMD) è una forma di miodistrofia di origine nutrizionale legata alla carenza di vitamina E e selenio che interessa sia l'asino che il cavallo (The Donkey Sanctuary, 2018). Gli animali colpiti, prevalentemente puledri fino a 7 mesi di età, presentano livelli plasmatici di vitamina E e selenio inferiori ai valori comunemente riscontrati nella specie asinina, associati a miodistrofia generalizzata (Bazzano et al., 2019)there is a dearth of scientific data on selenium and vitamin E normal values. Therefore, the aim of this study was to investigate the plasma concentrations of selenium and vitamin E in healthy donkeys belonging to different ages, sexes, and productive phases. Animals were divided into five groups including foals (group A: n = 7, n = 4 males and n = 3 females. La sintomatologia, sebbene variabile in quanto dipendente dai gruppi muscolari prevalentemente interessati, è generalmente caratterizzata da dispnea, disfagia, decubito persistente e andatura rigida. La terapia prevede la somministrazione di selenio (0.06 mg/kg) e terapia di supporto (Orsini e Divers, 2014).

Tabella 1. Principali parametri vitali nell'asino neonato (Bonelli et al., 2019)

Parametri vitali	
Temperatura	37,5°C - 39,2°C
Frequenza cardiaca	60-200 battiti/minuto
Frequenza respiratoria	60-88 atti respiratori/minuto

PATOLOGIA CLINICA

Gli aspetti relativi alla patologia clinica sono molto importanti nella specie asinina, in quanto supporto indispensabile al fine di emettere una diagnosi e una prognosi. La letteratura corrente ha evidenziato che l'asino, al pari delle altre specie, necessita di propri intervalli di riferimento, poiché diversi parametri ematologici e biochimici mostrano un andamento diverso da quello rilevato nella specie equina. Inoltre, è necessario sottolineare che all'interno della stessa specie asinina dobbiamo utilizzare diversi intervalli di riferimento in base all'età dell'animale, all'attività a cui è sottoposto e a particolari momenti fisiologici, quali la gravidanza e la lattazione.

Asino adulto

In un recente lavoro (Laus et al., 2015) sono riportati i valori di riferimento per i parametri ematologici ed ematochimici in una popolazione di asini. Gli autori non hanno evidenziato differenze tra maschi e femmine per nessuno dei parametri studiati, mentre l'età influenza diversi parametri ematologici ed ematochimici. In particolare, la concentrazione dei globuli rossi, della bilirubina totale e diretta, e dell'attività di alcuni enzimi (CPK, ALP, SDH) diminuiscono con l'avanzare dell'età, mentre gli indici eritrocitari MCV e MCH aumentano.

Gravidanza e lattazione

La gravidanza e la lattazione sono momenti fisiologici in cui si verifica un incremento delle necessità metaboliche della fattrice. In un recente studio (Bonelli et al., 2016), la concentrazione di globuli rossi e il valore dell'ematocrito sono risultati più elevati nell'asina durante l'ultima fase della gravidanza rispetto al periodo di lattazione. Questo decremento osservato in lattazione potrebbe essere spiegato sia dalla perdita di una quota ematica durante il parto che dall'aumento di ingestione di acqua dovuto alla spinta verso la produzione di latte. I globuli bianchi sono aumentati sia al parto che in lattazione rispetto all'ultimo periodo di gravidanza. Il cambiamento potrebbe essere legato al rilascio di cortisolo e catecolamine durante il parto (Bonelli et al., 2016).

La concentrazione di urea aumenta vicino al parto e rimane costante in lattazione, probabilmente per l'aumento di richiesta energetica legata al picco di lattazione (Bonelli et al., 2016). La concentrazione dei trigliceridi e del colesterolo diminuiscono dopo il parto e rimangono tali anche in lattazione. Gli asini mostrano un metabolismo dei grassi simile ai pony e alle razze pesanti caratterizzato da una facilità di mobilizzazione dei trigliceridi dal tessuto adiposo in momenti di richiesta energetica importante (Bonelli et al., 2016). L'attività di alcuni enzimi, quali AST, GGT e CK, sono inferiori in lattazione rispetto all'ultima fase di gravidanza, probabilmente in relazione al minor impegno muscolare e al minor impegno funzionale del fegato (Bonelli et al., 2016). La concentrazione degli elettroliti sodio e potassio diminuisce in lattazione rispetto all'ultimo periodo di gravidanza, così come la concentrazione delle proteine totali (Bonelli et al., 2016). In un recente studio (Gloria et al., 2018), è stato evidenziato un lieve aumento della glicemia e della creatinemia nel secondo quarto di gravidanza e una diminuzione della concentrazione del colesterolo vicino al parto.

Il puledro asinino

Nel puledro asinino, i valori di globuli rossi, emoglobina ed ematocrito diminuiscono dopo le prime 48 ore di vita, raggiungendo valori paragonabili all'adulto. Questo è dovuto al fatto che il puledro asinino, come l'equino, nascono emococoncentrati, per cui hanno la necessità di ingerire in tempi rapidi latte in modo da ripristinare una buona volemia. Stesso comportamento si ha per la concentrazione di creatinina che è alta alla nascita e decresce in modo rapido già nelle prime 24 ore di vita. L'ipercreatininemia peri-natale non è da considerarsi patologica perché dovuta non a problemi renali, bensì a un difetto di trasposto placentare che porta a una maggiore concentrazione di creatinina nell'allantoide (Sgorbini et al., 2013). La concentrazione dei globuli bianchi è più bassa alla nascita, probabilmente per l'azione del cortisolo endogeno nell'ultimo periodo di vita fetale e al momento del parto, che provoca una marginazione delle cellule verso i tessuti. La concentrazione tende a risalire già a partire dalle 24 ore di vita fino a raggiungere valori costanti dopo 15 giorni dalla nascita (Sgorbini et al., 2013). La concentrazione elettrolitica (calcio, sodio, potassio, fosforo), quella dei trigliceridi e del colesterolo non variano dalla nascita e nei primi due mesi di vita, in maniera simile a quanto già riportato nel puledro equino (Sgorbini et al., 2013). Il glucosio è basso alla nascita, ma si alza subito dopo il primo pasto e raggiunge valori fisiologici e simili all'adulto entro le 24 ore di vita (Veronesi et al., 2014).

Relativamente ai valori dell'emogasanalisi, il puledro asinino presenta la pCO_2 più alta alla nascita rispetto a 12 e 24 ore di età, mentre la pO_2 e la saturazione sono più basse. Parlando invece di valori del quadro acido-basico, il lattato è alto alla nascita e diminuisce velocemente (entro le 12 ore di vita), mentre il pH e l'eccesso di basi hanno un andamento diametralmente opposto. È, invece, costante la concentrazione dei bicarbonati (Veronesi et al., 2013).

BIBLIOGRAFIA

- Ashrafi GH, Piuko K, Burden F, Yuan Z, Gault EA, Muller M, et al (2008). Vaccination of sarcoid-bearing donkeys with chimeric virus-like particles of bovine papillomavirus type 1. *J Gen Virol*, 89: 148-57.
- Bazzano M, McLean A, Tesei B, Gallina E, Laus F (2019) Selenium and vitamin E concentrations in a healthy donkey population in Central Italy. *J Equine Vet Sci*, 78: 112-116.
- Bogaert L, Martens A, Van Poucke M, Ducatelle R, De Cock H, Dewulf J, et al (2008). High prevalence of bovine papillomaviral DNA in the normal skin of equine sarcoid-affected and healthy horses. *Vet Microbiol*, 29(1-2): 58-68.
- Bonelli F, Rota A, Corazza M, Derio D, Sgorbini M (2016). Hematological and biochemical findings in pregnant, postfoaling, and lactating jennies. *Theriogenol*, 85: 1233-8.
- Bonelli F, Nocera I, Conte G, Panzani D, Sgorbini M (2019) Relation between Apgar scoring and physical parameters in 44 newborn Amiata donkey foals at birth. *Theriogenology*, 142: 310-314.
- Brandt S, Haralambus R, Schoster A, Kirnbauer R, Stanek C (2008). Peripheral blood mononuclear cells represent a reservoir of bovine papillomavirus DNA in sarcoid-affected equines. *J Gen Virol*, 89: 1390-5.
- Burden FA, Du Toit, N, Hazell-Smith E, Trawford AF (2011). Hyperlipemia in a population of aged donkeys: description, prevalence, and potential risk factors. *JVIM* 25: 1420-1425.
- Collins SN, Dyson, SJ, Murray RC, Burden F, Trawford A (2011). Radiological anatomy of the donkey's foot: Objective characterization of the normal and laminitic donkey foot. *Equine Vet J*, 43(4): 478-86.
- Davis CR, Beth Valentine A, Gordon E, McDonough SP, Schaffer PA, Allen AL, et al (2016). Neoplasia in 125 donkeys (*Equus asinus*): literature review and a survey of five veterinary schools in the United States and Canada. *J Vet Diagn Invest*, 28(6): 662-70.
- Divers TJ, Barton MH (2018). Disorders of the liver. In Reed SM, Bayly WM, Sellon DC eds: *Equine Internal Medicine*, 4th ed, Elsevier, St. Louis, Missouri, USA; pp. 871-874.
- Drouard F, Feige K, Soldati G, Schwarzwald C, Fluckiger M (2003). Thoracic intervertebral disc protrusion in a donkey. *Vet Rec*, 152(21): 660-1.
- Durham AE, Frank N, McGowan C, Menzies-Gow NJ, Roelfsema E, Vervuert I, et al (2019). ECEIM consensus statement on equine metabolic syndrome. *JVIM*, 1-15. <https://doi.org/10.1111/jvim.15423>.
- Evans L, Crane M (2018). *The clinical companion of the donkey*, 1st ed., Matador, Leicestershire (UK); pp. 51-64.
- Finney S, Collins JA, Duggan V (2015). An investigation of the equine infectious disease threat represented by the presence of donkeys at mixed equestrian events in Ireland. *Ir Vet J*, 68: 11.
- Gloria A, Veronesi MC, Carluccio R, Parrillo S, De Amicis I, Contri A (2018). Biochemical blood analysis along pregnancy in Martina Franca jennies. *Theriogenol*, 115: 84-9.
- Haines A, Goliszek J (2019). Donkey and mule behavior for the veterinary team. *UK-Vet Equine*, 3: 27-32.
- Hellebeck JM, Beynen AC (2001). A preliminary report on a fat-free diet formula for nasogastric enteral administration as treatment for hyperlipemia in ponies. *Vet Quart*, 23: 201-205.
- Knottenbelt DK (2019) Skin disorders in donkey and mule. *Vet Clin North Am Equine Pract*, 35(3): 493-514.
- Kumar S, Kumar R, Sugimoto C (2009). A perspective on *Theileria equi* infections in donkeys. *Jpn J Vet Res*, 56: 171-80.

- Laus F, Paggi E, Cerquetella M, Spazianta D, Spaterna A, Tesei B (2010). Guttural pouch mycosis in a donkey (*Equus asinus*): a case report. *Veter Med*, 55: 561-5.
- Laus F, Spaterna A, Faillace V, Paggi E, Serri E, Vullo C, et al (2015). Reference values for hematological and biochemical parameters of mixed breed donkeys (*Equus asinus*). *Wulfenia J*, 22(1): 294-304.
- Laus F, Spaterna A, Faillace F, Veronesi F, Ravagnan S, Beribé F, et al (2015). Clinical investigation on *Theileria equi* and *Babesia caballi* infections in donkeys from central Italy. *BMC Vet Res*, 11: 100.
- Mendoza FJ, Toribio RE, Perez-Ecija A (2018). Aspects of Clinical Relevance in Donkeys. In Reed MS, Bayly WM, Sellon DC (Eds): *Equine internal Medicine*. 4th ed., Elsevier, St. Louis, Missouri (USA); pp. 1513-24.
- Mendoza FJ, Toribio RE, Perez-Ecija A (2018). Donkey internal medicine - Part I: metabolic, endocrine, and alimentary tract disturbances. *JEVS*, 65: 66-74.
- Mendoza FJ, Toribio RE, Perez-Ecija A (2018). Donkey Internal Medicine - Part II: Cardiovascular, Respiratory, Neurologic, Urinary, Ophthalmic, Dermatology, and Musculoskeletal Disorders. *J Equine Vet Sci*, 65: 86-97.
- Mitchell CF, Fugler LA, Eades SC (2015). The management of equine acute laminitis. *Vet Med Res Rep*, 6: 39.
- Mohamed A, Semieka MM, Ali A, Allethie A (2012). Sarcoids in Donkeys: Common types and available treatment. *J Adv Vet Res*, 2(4): 276-83.
- Moore B, Abbod S, Hinchcliff K (1994). Hyperlipemia in 9 miniature horses and miniature donkeys. *JVIM*, 8: 376-381.
- Morrow LD, Smith KC, Piercy RJ, Du Toit N, Burden FA, Olmos G, et al (2011). Retrospective analysis of post-mortem findings in 1.444 aged donkeys. *J Comp Pathol*, 144(2-3): 145-56.
- Olson C Jr, Cook RH (1951). Cutaneous sarcoma-like lesions of the horse caused by the agent of bovine papilloma. *Proc Soc Exp Biol Med* 77: 281-4.
- Orsini J, Divers TJ (2014) *Equine Emergencies-Treatment and procedures*, 4th ed. Elsevier, St Louis, USA.
- Panzani S, Carluccio A, Probo M, Faustini M, Kindahl H, Veronesi MC (2012) Comparative study on 15-ketodihydro-PGF2 α plasma concentrations in newborn horses, donkeys and calves. *Reprod Domest Anim*, 47: 82-86.
- Pascoe RR, Knottenbelt DC (1999). Neoplastic conditions. In: Pascoe RR, Knottenbelt DC (Editors). *Manual of Equine Dermatology*. Saunders, London, UK; pp. 244-52.
- Pascoe R, Knottenbelt DC (1999). *Manual of equine dermatology*. WB Saunders, UK.
- Paweska JT, Binns MM, Woods PSA, Chirnside ED (1997). A survey for antibodies to equine arteritis virus in donkeys, mules and zebra using virus neutralization (VN) and enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). *Equine vet J*, 29: 40-3.
- Piantedosi D, D'Alessio N, Di Loria A, Di Prisco F, Mariani U, Neola B, et al (2014). Seroprevalence and risk factors associated with *Babesia caballi* and *Theileria equi* infections in donkeys from Southern Italy. *Vet J*, 202(3): 578-82.
- Scott WD, Miller HW (2003). *Equine dermatology*. WB Saunders, USA.
- Sgorbini M, Bonelli F, Rota A, Baragli P, Marchetti V, Corazza M (2013). Hematology and clinical chemistry in Amiata donkey foals from birth to 2 months of age. *JEVS*, 33: 35-9.
- Sgorbini M, Veronesi F, Fratini M, Laus F (2018). Tick-Borne Diseases and Gastric Ulcer in The Donkey. *J Equine Vet Sci*, 65: 62-5.
- Sgorbini M, Bonelli F, Papini R, Busechian S, Briganti A, Laus F, et al (2018). Equine gastric ulcer syndrome in adult donkeys: investigation on prevalence, anatomical distribution and severity. *Equine Vet Educ*, 30(4): 206-10.
- The Donkey Sanctuary (2018) *The clinical companion of the donkey*, 1st ed. Troubador Publishing, Leicester, UK.

- Thiemann A (2008). Respiratory problems. In Svendsen E (Ed): The professional handbook of the donkey. 4th ed., Whittet Books, London (UK); pp. 111-23.
- Thiemann AK (2012). Respiratory disease in the donkey. *Equine vet Educ*, 24: 469-78.
- Thiemann AK, Rickards KJ, Getachew M, Paraschou G (2017). Colic in the Donkey. In Blikslager AT, White NA, Moore JN, Mair TM (Eds): The equine acute abdomen. 3rd ed, Wiley & Sons, Inc., USA; pp. 469-488.
- Thiemann A, Fernandez EB, Rickards K, Harrison A (2018). Assessing quality of life and welfare of donkeys in the UK. *In Pract*, 40(6): 249-57.
- Thiemann AK, Poore LA (2019). Hoof Disorders and Farriery in the Donkey. *Vet Clin North Am Equine Pract*, 35(3): 643-58.
- Thiemann AK, Sullivan RJ (2019). Gastrointestinal Disorders of Donkeys and Mules. *Vet Clin North Am Equine Pract*, 35(3): 419-432.
- Van Thielen B, Willekens I, Van der Schicht A, Pestieau P, Verhelle F, Goossens P, et al (2018). Radiography of the distal extremity of the manus in the donkey foal: Normal images and quantitative characterization from birth to 2 years of age: A pilot study. *An Histol Embryol*, 47(1): 71-83.
- Veronesi F, Laus F, Moretta I, Piergili Fioretti D, Spaterna A, Tesei B, et al (2010). Prevalenza di *Babesia caballi* e *Theileria equi* in cavalli di razza tolfetana. *Ippologia*, 21: 3-9.
- Veronesi MC, Gloria A, Panzani S, Sfirro MP, Carluccio A, Contri A (2014). Blood analysis in newborn donkeys: hematology, biochemistry and blood gases analysis. *Theriogenol*, 82: 294-303.
- Veronesi F, Morganti G, Ravagnan S, Laus F, Spaterna A, Diaferia M, et al (2014). Molecular and serological detection of tick-borne pathogens in donkeys (*Equus asinus*) in Italy. *Vet Microbiol*, 173(3-4): 348-54.
- Voss JL (1969). Transmission of equine sarcoid. *Am J Vet Res*, 30: 183-91.
- Waitt L, Cebra CK (2009). Characterization of hypertriglyceridemia and response to treatment with insulin in horses, ponies, and donkeys: 44 cases (1995-2005). *JAVMA*, 234: 915-919.
- White SD (2006). Equine Dermatology: Diagnosis and Treatment of the Pruritic Horse AAEP Proceedings Vol. 52, 457-500
- White SD (2013). Donkey dermatology. *Vet Clin North Am Equine Pract* 29(3): 541-716.
- Wise LN, Kappmeyer LS, Mealey RH, Knowles DP (2013). Review of equine piroplasmosis. *J Vet Intern Med*, 27: 1334-46.

SEDAZIONE, ANESTESIA E TRATTAMENTO DEL DOLORE NELL'ASINO

CECILIA VULLO

*Dipartimento di Scienze Veterinarie
Università degli Studi di Messina*

INTRODUZIONE

L'anestesia nella specie asinina è stata negli ultimi anni argomento particolarmente dibattuto, soprattutto perché si sono sempre utilizzati farmaci a dosaggi e ad intervalli raccomandati per il cavallo, spesso con risultati poco soddisfacenti. Vi sono infatti notevoli differenze tra asino e cavallo riguardo la distribuzione, il metabolismo e l'eliminazione dei farmaci, che ci obbligano, nella pratica clinica veterinaria, a dover adottare misure correttive quando si effettua un protocollo anestesiológico ed analgesico, al fine di evitare che l'effetto delle molecole utilizzate risulti inadeguato o insufficiente (Matthews et al., 1997; Matthews et al., 2005; Matthews e van Loon, 2013). Infatti, per un certo numero di farmaci, esistono differenze farmacologiche tra asini e cavalli che possono influenzare la dose, gli intervalli di dosaggio o l'efficacia, ma possono anche causare effetti collaterali (Mendoza et al., 2019).

Le differenze fisiologiche esistenti tra cavallo e asino sono soprattutto dovute al fatto che quest'ultimo è un animale originario dei climi desertici e l'adattamento a queste temperature lo ha portato ad avere una maggior tolleranza alla disidratazione, mantenendo un buon equilibrio idrico anche nelle situazioni più avverse. Questa differente ripartizione del compartimento acquoso nell'organismo è inevitabilmente implicata nella distribuzione dei farmaci somministrati, e va tenuta in considerazione nella scelta dei dosaggi e degli intervalli di somministrazione. Inoltre, l'asino si accontenta di una dieta più povera o comunque meno appetibile e nutriente, sintomo di un'evoluzione in un metabolismo diverso rispetto al cavallo, legato principalmente a differenze nel citocromo P450, che ha portato ad una maggiore rapidità del metabolismo stesso e ad una maggiore biodisponibilità della maggior parte dei farmaci utilizzati in questa specie (Matthews et al., 1997; Grosenbaugh et al., 2011).

VISITA E MEDICAZIONE PREANESTETICA

Quando si programma un intervento è opportuno che l'animale rispetti un digiuno solido di almeno 12 ore, mentre l'acqua può essere lasciata a disposizione.

La valutazione preoperatoria dell'asino dovrebbe essere tanto accurata quanto lo sarebbe per un cavallo, compresa la pesatura dell'animale quando possibile (Svendsen, 2008a; Matthews and Johannes, 2019). Qualora il temperamento dell'animale lo permetta, per operazioni in campo, vi sono vari metodi per determinare il peso approssimativo dell'animale. Quando le bilance non sono disponibili, stime del peso corporeo basate sulla circonferenza del torace e sull'altezza al garrese sono disponibili presso il Donkey Sanctuary (www.thedonkeysanctuary.org.uk).

Questa metodica è utile, oltre che per procedure in campo, anche nei casi in cui l'animale è poco collaborativo, e quindi risulta difficile farlo salire sulla bilancia. Infatti l'asino, ancor più che del cavallo, è un animale "testardo" che, quando si trova in situazioni di disagio, anziché

scappare, è solito rimanere sul posto davanti alla fonte di disagio, e diviene difficile renderlo collaborativo anche con l'applicazione di un torcinaso (Matthews et al., 2005).

Prima di procedere alla somministrazione di qualsiasi tipo di farmaco, è importante eseguire una visita preanestetica accurata prestando particolare attenzione all'apparato cardiovascolare, valutando la frequenza cardiaca (*range* fisiologico 36-65/ battiti al minuto variabile in base a razza, dimensioni ed età), i toni cardiaci, i caratteri del polso e il circolo capillare attraverso l'analisi delle mucose congiuntivali e buccali, e all'apparato respiratorio, valutando la frequenza respiratoria (circa 20-30/min) e la tipologia di *pattern* respiratorio, in funzione del fatto che la maggior parte dei farmaci sedativi e induttori provocano depressione respiratoria e che in anestesia generale il raggiungimento della posizione di decubito, se prolungata nel tempo, potrebbe presentare ripercussioni sia sull'entità dell'escursione toracica sia sul circolo ematico sistemico, dovute a compressione della gabbia toracica e dei grossi vasi da parte degli organi addominali.

È opportuno, prima di qualsiasi tipo di intervento, misurare la temperatura dell'animale (mediamente intorno ai 37°C) poiché una sua diminuzione o un suo innalzamento potrebbero essere legati a problemi sistemici anche gravi. Infine, occorre determinare lo stato del sensorio dell'animale, se depresso o eccitato, e anche se palesa atteggiamenti particolari, ricordando però che l'asino è un animale molto stoico, in cui risulta difficile visualizzare condizioni dolorifiche se ci si limita alla sola osservazione superficiale dell'animale (Ashley et al. 2005; Matthews et al., 2005; Matthews and Taylor, 2000; Matthews and Johannes, 2019).

Quando possibile, sarebbe opportuno valutare i parametri ematologici, attraverso un esame emocromocitometrico e biochimico, per verificare che non vi siano alterazioni che possano interferire negativamente con l'anestesia o la chirurgia (French and Patrick, 1995; Laus et al., 2015). Gli asini hanno maggiori probabilità di essere iperlipemici quando sono stressati o malati (Watson et al., 1990; Reagle, 2006; Matthews and van Loon, 2013).

Risulta spesso indispensabile il contenimento fisico dell'animale, necessario *in primis* per poter evidenziare la vena giugulare, sito di elezione per l'introduzione del catetere venoso, che dovrebbe essere sempre di lunghezza non inferiore ai 9 cm. In particolare, la vena giugulare nell'asino è nascosta da un muscolo cutaneo del collo particolarmente sviluppato, lasciando a disposizione il primo o l'ultimo terzo dell'omonimo solco per l'inserzione del catetere venoso. Per evitare che l'animale percepisca la penetrazione della punta del catetere, si può effettuare un piccolo bottone anestetico, infiltrando il sottocute con lidocaina. Inoltre, poiché la cute dell'asino è particolarmente spessa, si deve valutare la possibilità di effettuare una piccola incisione cutanea per facilitare l'ingresso del catetere evitando di modificarne la capacità di penetrazione. In alternativa, si può appoggiare la punta del catetere sul sito prescelto e quindi inserirlo esercitando una forza gradualmente più forte mantenendo un'inclinazione quasi perpendicolare al piano della cute, per poi proseguire lentamente fino ad essere sicuri del corretto posizionamento (Matthews and Taylor, 2000; Herman, 2009; Matthews and van Loon, 2013; Matthews and Johannes, 2019).

La medicazione preanestetica consiste nella somministrazione di farmaci che garantiscono sedazione e analgesia, che hanno pertanto lo scopo di tranquillizzare l'animale e prevenire la nocicezione durante l'intervento. Inoltre, una buona sedazione consente di abbassare i dosaggi dei farmaci sia induttori sia di mantenimento, e di conseguenza anche i potenziali effetti collaterali ad essi collegati. Gli asini sono in genere apparentemente meno sensibili agli effetti della premedicazione rispetto ai cavalli, in virtù della loro capacità di esibire meno il dolore, anche se piuttosto intenso, che pertanto potrebbe essere gestito in maniera inadeguata (Ashley et al., 2015; Matthews and Johannes, 2019).

Gli antinfiammatori non steroidei (FANS) sono tra i farmaci più utilizzati negli equidi in sede perioperatoria poiché prevengono l'insorgenza della sensazione dolorifica legata al rilascio di mediatori della flogosi, come si verifica in seguito ad interventi chirurgici. Come rego-

la generale, i FANS hanno un'emivita più breve negli asini, quindi potrebbe essere necessario somministrarli a intervalli più brevi rispetto ai cavalli. Tra questi, molto impiegato nella pratica equina è il flunixin meglumine (1.1 mg/kg IV), inibitore non selettivo delle ciclossigenasi, usato anche per il suo effetto antiendotossico, oltre che antinfiammatorio e antipiretico, utile per prevenire i rischi dovuti al rilascio di tossine a livello sistemico. Altrettanto utilizzato è il fenilbutazone (al dosaggio di 2.2-4.4 mg/kg IV) per i suoi effetti antinfiammatori, analgesici e antiradicali liberi dell'ossigeno. Rispetto al flunixin, predispone maggiormente ad ulcere gastriche ed può essere nefrotossico (Grosenbaugh et al., 2011; Burden e Thiemann, 2015).

Per quanto riguarda gli altri FANS sono state ad oggi condotte poche ricerche nella specie asinina per determinare intervalli di dosaggio ottimali per raggiungere la massima efficacia e la minima tossicità, soprattutto per quanto riguarda le differenze con il cavallo relative alla distribuzione e alla *clearance*. Infatti, ad esempio il meloxicam e il firocoxib hanno mostrato di avere un'emivita più corta negli asini, mentre il carprofen ha una *clearance* minore ed un'emivita più lunga. Bisogna quindi valutare con attenzione i dosaggi e gli intervalli di somministrazione di questi farmaci soprattutto per terapie a lungo termine, monitorando sempre l'animale per scongiurare effetti collaterali gastrointestinali o renali potenzialmente gravi, poiché, con la possibile eccezione del carprofen, può essere necessario aumentare la dose e/o ridurre gli intervalli di somministrazione (Grosenbaugh et al., 2011).

Uno dei tranquillanti più utilizzati negli equidi è l'acepromazina, i cui effetti sono primariamente mediati dal blocco dei recettori della dopamina, in particolare dei recettori D2, mentre l'antagonismo del recettore α 1-adrenergico media la diminuzione della pressione sanguigna e una riduzione del controllo termoregolatorio. Il rilassamento muscolare è un segno distintivo di questa sedazione. L'acepromazina non ha proprietà analgesiche da sola ed è spesso somministrata in combinazione con altri sedativi come gli alfa 2 agonisti (Rankin, 2015). Viene utilizzata nell'asino al dosaggio di 0.04-0.1 mg/kg per via endovenosa o intramuscolare. Per ottenere un effetto ottimale, gli asini possono richiedere anche il doppio della dose di acepromazina utilizzata nei cavalli (Matthews et al, 2005; Bidwell, 2010; Lizarraga et al., 2017).

Gli alfa2 agonisti possono essere utilizzati negli asini ad un dosaggio simile a quello utilizzato nei cavalli, ad eccezione dei *miniature donkeys* nei quali la dose deve essere spesso raddoppiata (Lizarraga and Beths, 2012; Mendoza et al., 2019).

In virtù della loro azione prolungata e degli effetti antinocicettivi più potenti, sono stati proposti detomidina (0.02-0.04 mg/kg) e romifidina (0.08-0.1 mg/kg) per la gestione del dolore negli asini rispetto a xilazina (0.5-1.1 mg/kg) e dexmedetomidina (3.5 mg/kg) i cui effetti analgesici risultano meno intensi e di durata inferiore (El-Magharaby et al., 2005; Matthews, 2010; Lizarraga and Janovyak, 2013; Lizarraga et al., 2016).

La recente introduzione del gel orale di detomidina si è rivelata molto utile per asini e muli in cui risulta difficile la inoculazione, con un tempo per l'assorbimento non inferiore ai 40 minuti (Matthews and van Loon, 2013).

Questi farmaci vengono in particolar modo impiegati nella fase di premedicazione in bolo ma anche in infusione continua sia in interventi in stazione quadrupedale che in anestesia generale, solitamente dopo aver somministrato all'animale un tranquillante, come l'acepromazina. Possiedono un effetto dose-dipendente che viene raggiunto dopo pochi minuti dalla loro somministrazione, che si evidenzia con abbassamento della testa, del labbro inferiore, delle orecchie e ampliamento della base d'appoggio. Vengono somministrati generalmente per via endovenosa, ma anche per via intramuscolare dove in genere è necessario aumentare il dosaggio poiché per questa via i tempi per ottenere gli effetti desiderati risultano più lunghi. Questi farmaci sono caratterizzati dal cosiddetto "effetto tetto", ossia all'aumentare del dosaggio, gli effetti, sia desiderati che non, aumentano fino a un valore soglia oltre il quale si avrà un incremento solo degli effetti avversi (Taylor and Clarke, 2007).

Le modalità di somministrazione dipendono dal tipo di intervento e dal tipo di anestesia che si vuole ottenere. Infatti, per interventi relativamente brevi, può essere sufficiente un singolo bolo, mentre per interventi più lunghi si preferisce generalmente l'infusione continua costante, in particolare in associazione con oppioidi, come il butorfanolo (0.02-0.05 mg/kg) per potenziare l'effetto analgesico (Matthews et al., 2002; El-Kammar and Gad, 2014; Lizarraga et al., 2017).

Gli oppioidi sono potenti analgesici che svolgono la loro azione impedendo il rilascio di neurotrasmettitori algogeni a livello di tessuti infiammati o dolenti. Il loro utilizzo nell'asino è ben documentato, soprattutto in associazione agli alfa2 agonisti (El-Maghraby and Atta, 1997; Joubert et al., 1999; Matthews et al., 2002).

Anche il tramadolo (2.5 mg/kg) e la flupirtina (1 mg/kg) sono risultati analgesici efficaci negli asini (Giorgi et al., 2009; Giorgi et al., 2015). Nonostante gli asini abbiano la pelle più spessa dei cavalli, i cerotti transdermici di fentanil sembrano alleviare il dolore (Matthews, 2010).

Il metamizolo (dipirone) è un farmaco analgesico, antipiretico e spasmolitico con proprietà antinfiammatorie minime. La farmacocinetica del metamizolo e dei suoi metaboliti è stata studiata nell'asino, mostrando emivite più brevi rispetto al cavallo (Aupanun et al., 2016).

INDUZIONE

Numerose combinazioni di farmaci sono state utilizzate per l'induzione e il mantenimento dell'anestesia nell'asino. Asini premedicati con detomidina (0.015 mg/kg) sono stati indotti con propofol (2 mg/kg) e mantenuti con una infusione di propofol (Hartsfield et al., 1994). Boli intermittenti di xilazina e ketamina possono essere utilizzati per indurre e mantenere l'anestesia, ma devono essere somministrati più frequentemente rispetto ai cavalli: circa ogni 10 minuti rispetto ai 15-20 minuti nei cavalli, poiché gli asini metabolizzano la ketamina più rapidamente dei cavalli (Matthews et al. 1994). Poiché la combinazione xilazina-ketamina potrebbe non garantire un tempo sufficiente per la procedura chirurgica, sono state valutate varie combinazioni di guaifenesina con ketamina e xilazina. Taylor et al. hanno valutato varie combinazioni di guaifenesina (G), ketamina (K) e xilazina (X), nella combinazione detta *Triple Drip*, e hanno individuato che GKX (guaifenesina 50 mg/ml, ketamina 2 mg/ml, xilazina 0.5 mg/ml) determina un'anestesia soddisfacente, dopo una premedicazione con 1.1 mg/kg di xilazina. L'induzione è stata ottenuta mediante una rapida somministrazione della miscela fino al raggiungimento del decubito; l'infusione è stata quindi rallentata e mantenuta monitorando la profondità dell'anestesia (Taylor et al., 2008). Questo studio è stato suggerito dopo un primo lavoro che ha dimostrato che gli asini possono essere più sensibili alla guaifenesina, mentre metabolizzano la ketamina più rapidamente (Matthews et al., 1997; El-Ghoul et al., 2004; Taylor et al., 2008).

Altri lavori hanno dimostrato che GKX (guaifenesina 50 mg/ml, ketamina 2 mg/ml, xilazina 0,5 mg/ml) induce un'anestesia soddisfacente dopo premedicazione con xilazina (1 mg/kg EV) e induzione con ketamina (2,2 mg/kg) e diazepam (0.05 mg/kg), nonostante un certo grado di ipossemia, rispetto ad una anestesia indotta con con ketamina (1.5 mg/kg) e propofol (0.5 mg/kg) e mantenuta con una infusione a concentrazione costante di ketamina (0.05 mg/kg/min) e propofol (0.15 mg/kg/min) (Coelho et al., 2014). Il propofol può essere inoltre utilizzato al dosaggio di 1 mg/kg per via endovenosa in associazione con la ketamina a 3 mg/kg e la miscela si è dimostrata determinare una induzione, un rilassamento muscolare e un recupero di migliore qualità rispetto alla sola ketamina utilizzata al dosaggio di 3 mg/kg (Abass et al., 2007).

Anche il tiopentale è stato utilizzato per l'induzione (5 mg/kg) e il mantenimento (8 mg/kg) dell'anestesia dopo premedicazione con atropina, acepromazina e xilazina. La qualità dell'induzione e del mantenimento è risultata buona, ma il recupero si è dimostrato lento (Emami et al., 2006).

Un lavoro ha confrontato la qualità dell'induzione con propofol (2 mg/kg) con il tiopentale (10 mg/kg) dopo premedicazione con 1 mg/kg di xilazina, con risultati soddisfacenti con entrambi i protocolli (Abd-Elmaseeh, 2008). Il tiopentale da solo o in combinazione con la guaifenesina è un'altra potenziale scelta per procedure di breve durata, ma con il rischio di insorgenza di apnea (Matthews, 2010).

Un lavoro ha messo a confronto tre combinazioni di farmaci utilizzati per l'induzione: xilazina-butorfanolo-ketamina (XBK), xilazina-butorfanolo-tiletamina/zolazepam (XBT), e xilazina-propofol (XP), valutando la qualità dell'induzione, il grado di rilassamento muscolare e il risveglio. Gli autori concludono che la qualità dell'anestesia ottenuta con KBK è risultata insoddisfacente rispetto a quella ottenuta con gli altri due protocolli (Matthews et al., 2002).

Un recente studio ha confrontato la somministrazione endovenosa di midazolam (0,05 mg/kg) e alfaxalone (1 mg/kg IV) con quella eseguita con midazolam (0,05 mg/kg) e ketamina (2,2 mg/kg) dopo premedicazione con xilazina (2 mg/kg IM, seguito da 0,5 mg/kg EV dopo 60 minuti). Le induzioni sono state più rapide con alfaxalone ma i recuperi sono stati più dolci e più brevi nel gruppo che ha ricevuto ketamina. L'ipossiemia si è verificata con entrambe le combinazioni di farmaci (Maney et al., 2018).

L'induzione dell'anestesia, se eseguita in clinica, dovrebbe essere effettuata in un box di abbattimento provvisto di pareti imbottite e senza spigoli, per evitare qualsiasi pericolo durante la fase di caduta dell'animale dopo l'induzione e la fase di risveglio, anche se l'asino, rispetto al cavallo, presenta un risveglio molto più "dolce". In alternativa, nelle anestesia di campo è opportuno realizzare un adeguato letto operatorio morbido per garantire una caduta dell'animale senza conseguenze.

Nel caso si proceda all'intubazione, è importante sottolineare che nell'asino questa procedura può risultare difficoltosa a causa della particolare conformazione anatomica della laringe, che presenta un recesso laringeo piuttosto profondo, un diverticolo faringeo e corde vocali particolarmente sviluppati (Hermann, 2009). Casi occasionali di trachea ipoplastica o conformazione anormale (specialmente negli asini nani) possono rendere necessario l'uso di un laringoscopia o di un endoscopia flessibile. Potrebbe essere necessario prendere in considerazione l'intubazione naso-tracheale come alternativa (Matthews and Johannes, 2019).

MANTENIMENTO

Nella fase di mantenimento dell'anestesia, oltre alla possibilità di usare la maggior parte dei farmaci induttori nelle combinazioni che sono state precedentemente descritte, in infusione continua o in microbolli ripetuti nel tempo, l'anestesia può essere mantenuta utilizzando anestetici inalatori, raccomandati per procedure di durata superiore ai 60 minuti, per pazienti più anziani o ad alto rischio (Seddighi and Doherty, 2012; Matthews e van Loon, 2013), come isoflurano o sevoflurano.

Non sono state osservate differenze apparenti nelle concentrazioni minime alveolari tra cavalli e asini. Le percentuali respiratorie sono generalmente più elevate negli asini anestetizzati rispetto ai cavalli e la depressione respiratoria osservata con isoflurano nei cavalli non sembra essere un problema altrettanto grave negli asini; cioè, il "trattenimento del respiro" visto nei cavalli si verifica raramente negli asini. La somministrazione di fluidi per via endovenosa (come la soluzione di Ringer lattato) è raccomandata tra 5 e 10 ml/kg/h, specialmente durante l'anestesia per inalazione, per supportare la pressione sanguigna. Si raccomanda anche un

posizionamento appropriato per proteggere i nervi a decorso superficiale e l'imbottitura del letto operatorio per prevenire la miosite. La miosite sembra essere meno frequente negli asini rispetto ai cavalli (presumibilmente a causa della minore massa muscolare), ma potrebbe essere un problema nelle razze di asino più grandi. Il trattamento di altre complicanze anestetiche, come ad esempio l'ipotensione, dovrebbe essere lo stesso di quello praticato per i cavalli. Gli asini rispondono molto bene all'infusione di dobutamina quando sono ipotensivi, ipovolemici o settici (Matthews and Johannes, 2019).

MONITORAGGIO E RISVEGLIO

Durante l'anestesia, come di regola, devono essere monitorati i battiti cardiaci e respiratori, la pressione sanguigna, i segni oculari (inclusi il riflesso palpebrale e il posizionamento del bulbo oculare), i riflessi della deglutizione e il rilassamento muscolare

Il monitoraggio della profondità dell'anestesia nell'asino è un po' diverso da quello del cavallo, in cui i "segni oculari" (ad es. nistagmo, riflessi corneali e palpebrali e rotazione del globo) sono di solito indicatori affidabili della profondità dell'anestesia. Negli asini, l'occhio tende a rimanere centrale e immobile anche quando l'animale è in un piano molto leggero di anestesia. Pertanto, l'uso del monitoraggio della pressione sanguigna è fortemente consigliato, in quanto sembra fornire un indicatore più affidabile della profondità dell'anestesia. Inoltre, dall'osservazione clinica, si evince che la frequenza e il *pattern* respiratori sono diversi negli asini rispetto ai cavalli e ai muli; infatti, la frequenza respiratoria tende ad essere superiore, con minore escursione della gabbia toracica. Come nei cavalli, la pressione sanguigna sembra essere l'indicatore più affidabile della profondità dell'anestesia negli asini; un rapido aumento di solito indica che il piano anestetico è troppo superficiale e che l'animale potrebbe avere probabilità di muoversi. La pressione arteriosa può essere misurata indirettamente con il metodo oscillometrico (utilizzando un bracciale posizionato sulla coda o sull'arto) o con metodo diretto, con l'introduzione di un catetere arterioso (arteria mascellare o metatarsale) collegato ad un trasduttore di pressione. La misurazione invasiva rappresenta il gold standard, mentre la misurazione diretta consente semplicemente di valutare l'andamento della pressione arteriosa.

Gli asini, così come i muli, di solito recuperano bene dall'anestesia, ma spesso richiedono più tempo per tentare di stare in piedi rispetto ai cavalli, e iniziano a muoversi solitamente quando si sentono stabili e sicuri. Infatti, nella maggior parte dei casi, fanno solo un tentativo per mettersi in piedi che è poi quello definitivo. Come per i cavalli, bisogna prestare attenzione ad assicurare la pervietà delle vie aeree; rumori "russanti" possono indicare una ostruzione parziale, che può essere risolta raddrizzando la testa e il collo dell'animale. Il trattamento inadeguato del dolore può produrre un recupero più difficoltoso, ma gli asini non presentano ma risvegli eccitati come può accadere con i cavalli. Molti asini possono aver bisogno di una "spinta" sulla coda e potrebbero mettersi in piedi come le vacche mentre altri si alzano nello stesso modo dei cavalli (Matthews et al., 2002; Matthews e van Loon 2013; Yamaoka et al., 2017; Vullo et al., 2017).

TECNICHE DI ANESTESIA LOCALE

Le tecniche locali più utilizzate nell'asino sono l'epidurale, l'inoculazione intrafunicolare del testicolo, il blocco dei nervi della testa.

L'anestesia epidurale è stata descritta nell'asino da Shoukry e colleghi (Shoukry et al., 1975), e può essere eseguita per varie condizioni come i prolapsi rettali e vaginali, chirurgia a livello della coda o del perineo, o come tecnica analgesica post-operatoria (Matthews and

Johannes, 2019). L'anatomia delle vertebre coccigee e la tecnica di esecuzione dell'epidurale sono state dettagliatamente descritte. Il sito ottimale per l'introduzione dell'ago spinale è tra la seconda e la terza vertebra coccigea, con una inclinazione di 30° rispetto al piano orizzontale (Burnham, 2002). Numerosi farmaci sono stati utilizzati per questa via nell'asino, tra cui lidocaina (0.5 mg/kg), tramadolo (0.2 mg/kg) (Marzok and El-Khodery, 2015), nalbufina (0.2 mg/kg) e lidocaina (0.11 mg/kg) (Torad and Hassan, 2016), dexmedetomidina (5 mg/kg) e xilazina (200 mg/kg) (Hamed et al., 2017). Viene suggerito anche l'utilizzo della morfina (0.1-0.2 mg/kg) per le sue ottime proprietà analgesiche e per la sua lunga durata di azione (Matthews and Johannes, 2019).

L'inoculazione di lidocaina all'interno del funicolo spermatico nell'asino con adrenalina (10 ml di lidocaina al 2%) è stata descritta come trattamento analgesico supplementare durante la castrazione (Suriano et al., 2014).

Recentemente è stato descritto nel cadavere il blocco ecoguidato del nervo mascellare, con risultati molto promettenti (Hagag and Tawfik, 2018), mentre un *case report* descrive la tecnica di desensibilizzazione con mepivacaina del nervo auricolare e auricolopalpebrale per l'asportazione di un sarcoide auricolare (McCluskie and Tremaine, 2009).

Sia per chirurgia in stazione che in decubito, le tecniche di anestesia locale possono essere un'aggiunta utile per potenziare l'analgesia. Aziz e colleghi descrivono negli asini l'ovariectomia laparoscopica in stazione usando una sedazione con 1 mg/kg di xilazina e infiltrazione locale dei lati del portale laparoscopico di lidocaina (Aziz et al., 2008).

Infine, per le anestesie in stazione, piuttosto che utilizzare boli successivi di sedativo ad effetto per prolungare la sedazione, si ricorre spesso ad infusioni costanti di alfa2 agonisti e oppiacei, estrapolando i dosaggi da esperienze già fatte nei cavalli (Matthews and Johannes, 2019).

BIBLIOGRAFIA

- Abass BT, Al-Hyani OH, Al-Jobory AKH (2007): Anesthesia in xylazine premedicated donkeys with ketamine and ketamine-propofol mixture: A comparative study. *Iraqi J Vet Sci*, 21:117-123.
- Abd-Almaseeh ZT (2008): Comparative anesthetic protocols: Propofol and thiopental in xylazine premedicated donkeys. *J Anim Vet Adv*, 7:1563-1567.
- Ashley FH, Waterman-Pearson AE, Whay HR (2005): Behavioural assessment of pain in horses and donkeys: Application to clinical practice and future studies. *Equine Vet J*, 37:565-575.
- Aupanun S, Laus F, Poapolatthep A, Owen H, Vullo C, Faillace V, Giorgi M (2016): Pharmacokinetic Assessment of the Marker Active Metabolites 4-Methyl-amino-antipyrine and 4-Acetyl-amino-antipyrine After Intravenous and Intramuscular Injection of Metamizole (Dipyrone) in Healthy Donkeys. *J Eq Vet Sci*, 47:55-61.
- Aziz D, Al-Badrany M, Taha M (2008): Laparoscopic ovariectomy in standing donkeys by using a new instrument. *Anim Reprod Sci*, 107:107-14.
- Bidwell LA (2010): How to anesthetize donkeys for surgical procedures in the field. *Proceedings of the 56th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners (AAEP)*, 56:38-40.
- Burden F, Thiemann A (2015): Donkeys are different. *Journal of Equine Veterinary Science*, 35: 376-382.
- Burnham S (2002): Anatomical differences of the donkey and mule. *AAEP Proc*, 48: 102-109.
- Coelho CMM, Moreno JCD, Goulart Dda S, Caetano LB, Soares LK, Coutinho GH, Alves GE, da Silva LA (2014): Evaluation of cardiorespiratory and biochemical effects of

- ketamine-propofol and guaifenesin-ketamine-xylazine anesthesia in donkeys (*Equus asinus*). *Vet Anaesth Analg*, 41:602-12.
- El-Ghoul W, Zabady M, Saleh I (2004): Total intravenous anaesthesia in donkeys (*Equus asinus*): comparison of anaesthetic and cardiorespiratory effects of four anaesthetic drug combinations. *Vet Med J*, 52:69-87.
- El-Kammar MH, Gad SB (2014): Evaluation of the sedative, analgesic, clinicophysiological and haematological effects of intravenous detomidine, detomidine-butorphanol, romifidine and romifidine-butorphanol in standing donkeys. *Equine Vet Educ*, 26:202-207.
- El-Maghraby HM, Al-Akraa AM, Ghanem MM (2005): The sedative, analgesic and biochemical effects of romifidine in donkeys. *Benha Vet Med J*, 16:232e-46.
- El-Maghraby HM, Atta AH (1997): Sedative and analgesic effects of detomidine with and without butorphanol in donkeys. *Assiut Vet Med J*, 37:201-211.
- Emami MR, Seifi H, Tavakoli Z (2006): Effects of totally intravenous thiopental anesthesia on cardiopulmonary and thermoregulatory system in donkeys. *J Appl Anim Res*, 29:13-16.
- French, JM and Patrick, VH (1995). Reference values for physiological, haematological and biochemical parameters in domestic donkeys (*Equus asinus*). *Equine Vet. Educ.*, 7:33-35.
- Giorgi M, Del Carlo S, Sgorbini M, Saccomani G (2009): Pharmacokinetics of tramadol and its metabolites M1, M2, and M5 in donkeys after intravenous and oral immediate release single-dose administration. *J Equine Vet Sci*, 29:569-74.
- Giorgi M, Laus F, De Vito V, Owen H, Poapolathep A, Paggi E, Vullo C (2015): Flupirtine: preliminary pharmacokinetics in the donkey. *J Equine Vet Sci*, 35:309-14.
- Grosenbaugh DA, Reinemeyer CR, Figueiredo MD (2011): Pharmacology and therapeutics in donkey. *Equine Vet Educ*, 23:523-530.
- Grosenbaugh DA, Reinemeyer CR, Figueiredo MD (2011): Pharmacology and therapeutics in donkeys. *Equine Vet Educ*, 23:523-30.
- Hagag U, Tawfik M (2018): Blind versus ultrasound-guided maxillary nerve block in donkeys. *Vet Anaesth Analg*, 45:103-110.
- Hamed M, Abouelnasr KS, Ibrahim HMM, El-khodery S (2017): Comparative sedative and analgesic effects of epidural dexmedetomidine and xylazine in donkeys (*Equus asinus*). *J Equine Vet Sci*, 59:104-109.
- Hartsfield SM, Matthews NS, Taylor T., Light GS, Hooper RN, Erickson SW (1994): Detomidine-propofol anesthesia for carotid artery translocation in donkeys. *Vet Surg*, 23:75-76.
- Herman CL (2009): The anatomical differences between the donkey and the horse. In: *Veterinary Care of Donkeys*, Eds: Matthews NS and Taylor TS, International Veterinary Information Service (www.ivia.org).
- Joubert KE, Briggs P, Gerber D, Gottschalk RG (1999): The sedative and analgesic effects of detomidine-butorphanol and detomidine alone in donkeys. *J S Afr Vet Assoc*, 70:112-118.
- Laus F, Spaterna A, Faillace V, Paggi E, Serri E, Vullo C, Cerquetella M, Tesei B: Reference values for hematological and biochemical parameters of mixed breed donkeys (*Equus asinus*). *Wulfenia*, 22:294-304.
- Lizarraga I, Beths T (2012): A comparative study of xylazine-induced mechanical hypoalgesia in donkeys and horses. *Vet Anaesth Analg*, 39:533-8.
- Lizarraga I, Janovyak E (2013): Comparison of the mechanical hypoalgesic effects of five alpha(2)-adrenoceptor agonists in donkeys. *Vet Rec*, 73:294.
- Lizarraga I, Castillo-Alcala F, Varner KM, Robinson LS, (2016): Sedation and mechanical hypoalgesia after sublingual administration of detomidine hydrochloride gel to donkeys. *J Am Vet Med Assoc*, 249:83-89.

- Lizarraga I, Castillo-Alcala F, Robinson L (2017): Comparison of sedation and mechanical antinociception induced by intravenous administration of acepromazine and four dose rates of dexmedetomidine in donkeys. *Vet Anaesth Analg*, 44:509-17.
- Maney JK, Durham HE, Goucher KP, Little EL (2018): Induction of anesthesia and recovery in donkeys sedated with xylazine: a comparison of midazolam-alfaxalone and midazolam-ketamine. *Vet Anaesth Analg*, 45:539-44.
- Marzok M, El-khodery S (2015): Comparative analgesic and sedative effects of tramadol, tramadol-lidocaine and lidocaine for caudal epidural analgesia in donkeys (*Equus Asinus*). *Vet Anaesth Analg*, 42:215-219.
- Marzok MA, El-Khodery SA (2015): Comparative analgesic and sedative effects of tramadol, tramadol-lidocaine and lidocaine for caudal epidural analgesia in donkeys (*Equus asinus*). *Vet Anaesth Analg*, 42:215-219.
- Matthews NS, Taylor TS, Hartsfield SM, Hayton, WL, Jones DH (1994): Pharmacokinetics of ketamine in mules and Mammoth asses premedicated with xylazine. *Equine Vet J*, 26:41-243.
- Matthews NS, Taylor TS, Hartsfield SM (1997): Anaesthesia of donkeys and mules. *Equine Vet Educ*, 9:198-202.
- Matthews NS, Taylor TS (2000): Anesthetic management of donkeys and mules. Publisher: International Veterinary Information Service (www.ivis.org).
- Matthews NS, Taylor TS, Sullivan JA (2002): A comparison of 3 combinations of injectable anesthetics in miniature donkeys. *Vet Anaesth Analg*, 29:36-42.
- Matthews NS, Taylor TS, Hartsfield SM (2005): Anaesthesia of donkeys and mules. *Equine Vet Educ*, 7:102-107.
- Matthews NS (2010): Donkey anesthesia and analgesia - not just small horses. Proceedings NAVC Conference. Orlando, Florida, USA, 16-20.
- Matthews N, van Loon, JPAM (2013): Anaesthesia and analgesia for the donkey and the mules. *Equine Vet Educ*, 25:47-51.
- Matthews N, Johannes PAM (2019): Anesthesia, sedation, and pain management of donkeys and mules. *Vet Clin North Am Equine Pract*, 35:515-527.
- McCluskie L, Tremaine W (2009): Surgical removal of an aural sarcoid in a donkey using ultrasonic shears. *Vet Rec*, 164:561-563.
- Mendoza FJ, Perez-Ecija A, Toribio RE (2019): Clinical pharmacology in donkeys and mules. *Vet Clin North Am Equine Pract*, 35:589-606.
- Rankin DC (2015): Sedatives and Tranquilizers in Lumb and Jones, The fifth edition, 196-206.
- Reagle CA (2006): Donkeys and mules as surgical patients – special consideration – Proceedings of the 9th International Congress of World Equine Veterinary Association, Marrakech, Morocco.
- Seddighi R, Doherty T (2012): Anesthesia of the geriatric equine. *Vet Med Res Rep*, 3:53-64.
- Shoukry M, Saleh M, Fouad K (1975): Epidural anesthesia in donkeys. *Vet Rec*, 97:450-452.
- Suriano R, Varasano V, Robbe D, Carluccio A, Straticò P, Contri A, Petrizzi L (2014): Intraoperative analgesic effect of intrafunicular lidocaine injection during orchietomy in isoflurane-anesthetized Martina Franca donkeys. *J Equine Vet Sci*, 34:793-798.
- Svensden ED (2008): The professional handbook of the donkey. In: Duncan J, Hadrill D, editors. 4th edition. Wiltshire (United Kingdom), 400.
- Taylor PM, Clarke LW (2007): Hand book of equine anaesthesia. 2nd Ed, Saunders Elseivier.
- Taylor EV, Baetge C, Matthews NS, Taylor TS, Barling KS (2008): Guaifenesin-ketamine-xylazine infusions to provide anesthesia in donkeys. *J Equine Vet Sci*, 28:295-300.
- Torad F, Hassan E (2016): Epidural lidocaine, nalbuphine and lidocaine-nalbuphine combination in donkeys. *J Equine Vet Sci*, 37:1-5.

- Vullo C, Carluccio A, Robbe D, Meligrana M, Petrucci L, Catone G (2017): Guaiphenesin-ketamine-xylazine infusion to maintain anesthesia in mules undergoing field castration. *Acta Vet Scand*, 59:67-75.
- Watson TD, Packard CJ, Shepherd J, Fowler JN (1990): An investigation of the relationships between body condition and plasma lipid and lipoprotein concentrations in 24 donkeys. *Vet Rec*, 127:498-500.
- www.thedonkeysanctuary.org.uk
- Yamaoka TT, Flaherty D, Pawson P, Scott M, Auckburally A (2017): Comparison of arterial blood pressure measurements obtained invasively or oscillometrically using a Datex S/5 compact monitor in anaesthetised adult horses. *Vet Anaesth Analg*, 44:492-501.

BIOLOGIA, TRATTAMENTO E CONTROLLO DEI PRINCIPALI ENDOPARASSITI DELL'ASINO

VINCENZO VENEZIANO, FRANCESCO BUONO, LAURA PACIFICO

*Dipartimento di Medicina Veterinaria e Produzioni Animali Università di Napoli - Federico II
vincenzo.veneziano@unina.it*

INTRODUZIONE

I dati demografici relativi alla consistenza della popolazione asinina mondiale riportati dalla FAO (*Food and Agriculture Organization*) sono di oltre 50 milioni di capi, di cui circa il 60% è allevata in Africa dove questi animali sono utilizzati per il trasporto di persone, cose e nelle attività agricole. Diversamente, in molti Paesi industrializzati, gli asini sono allevati prevalentemente per attività ricreative (come ad esempio il trekking someggiato) per lo sviluppo della razza, come animali da compagnia o per l'onoterapia. Inoltre, in alcuni Paesi europei, come l'Italia, gli asini sono allevati anche per la produzione di latte e di carne.

In base a questa “riscoperta” dell'asino, è sempre più crescente l'attenzione alle problematiche sanitarie da parte di chi opera nel settore asinino finalizzata al benessere dell'animale e alla sicurezza del consumatore di latte d'asina. Allo stato attuale scarse sono le conoscenze sull'asino in quanto gli studi in questa specie animale risultano essere pochi. I parassiti e le malattie parassitarie sono negli allevamenti zootecnici di ruminanti e cavalli una delle principali cause di mancata produzione e scarse performances, ben poco però si è studiato sui parassiti di questa specie animale. L'asino molto spesso viene allevato insieme con il cavallo (Foto 1)



Foto 1 - Asini e Cavalli insieme al pascolo.

e queste due specie condividono la maggior parte dei parassiti. Malgrado siano numerosi i riferimenti bibliografici che dimostrano differenze tra questi due animali su base anatomica, fisiologica e metabolica, quasi sempre le conoscenze ottenute sul cavallo, nella pratica, sono però mutuate ed applicate anche sull'asino.

I più comuni endoparassiti dell'asino sono riassunti nella tabella sottostante.

Principali endoparassiti dell'asino

Nome Comune	Nome Scientifico	Localizzazione del parassita	Principali sintomi
Grandi strongili	<i>Strongylus</i> spp.	Grosso intestino	Colica, perdita di peso e diarrea
Piccoli strongili	<i>Cyathostominae</i>	Grosso intestino	Diarrea
Ascaridi	<i>Parascaris equorum</i> <i>Parascaris univalens</i>	Piccolo intestino	Colica, dimagrimento, ostruzioni intestinali
-	<i>Strongyloides westeri</i>	Piccolo intestino	Diarrea nei puledri
Ossiuri	<i>Oxyuris equi</i>	Grosso intestino	Prurito anale
Gasterofili	<i>Gasterophilus</i> spp.	Intestino (stomaco, duodeno e retto)	Spesso assenti, occlusione intestinale e prolasso del retto
Strongili polmonari	<i>Dictyocaulus arnfieldi</i>	Polmoni	Spesso assenti
-	<i>Habronema</i> spp.	Stomaco, cute	Piaga estiva
Tenie	<i>Anoplocephala</i> spp.	Grosso intestino	Colica
Distomi	<i>Fasciola hepatica</i>	Fegato	Spesso assenti
Coccidi	<i>Eimeria leuckarti</i>	Piccolo intestino	Spesso assenti, diarrea nei puledri

Nella presente review sono trattati i diversi aspetti dei principali endoparassiti che possono riscontrarsi nell'asino, riferendo sulla morfologia, sulla biologia e sul controllo.

STRONGILI INTESTINALI (SI)

L'asino è ospite definitivo di un gran numero di parassiti intestinali, tra questi i nematodi appartenenti alla **famiglia Strongylidae**, conosciuti come strongili intestinali (SI), sono i più importanti. Questi parassiti sono vermi tondi (nematodi) a sessi separati e da adulti si localizzano nel grosso intestino. La famiglia Strongylidae si suddivide in due **Subfamiglie, Strongylinae** (grandi strongili - GS) e **Cyathostominae** (piccoli strongili - PS) che si diversificano *in primis* per la differente lunghezza del corpo (fino a 5 cm i grandi strongili, fino a 2 cm i piccoli Strongili) (Foto 2).

STRONGYLINAE (GRANDI STRONGILI - GS)

Descrizione del parassita

Lunghi 2-5 cm, hanno corpo tozzo e sono facilmente visibili sulla mucosa intestinale del grosso intestino. I principali generi sono: *Strongylus*, *Oesophagodontus*, *Triodontophorus*, *Craterostomum* e *Bidentostomum* tuttavia, come evidenziato da studi di filogenetica *Triodontophorus* spp., *Oesophagodontus robustus* e *Craterostomum acuticaudatum* sono più

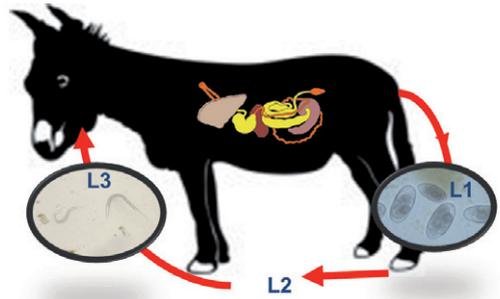


Foto 2 - Grandi Strongili (GS) e Piccoli Strongili (PS).

strettamente legati alla sottofamiglia Cyatostominae. *Strongylus* è il genere maggiormente studiato e comprende 4 specie: *S. vulgaris*, *S. edentatus*, *S. equinus* e *S. asini* (identificato solo nell'asino e nella zebra). I GS presentano capsula buccale di forma sferica e di grandi dimensioni o a forma di imbuto, spesso con una sorta di denti alla base che sono caratteristici nelle diverse specie: *S. vulgaris* presenta due denti arrotondati, *S. edentatus* non presenta denti, *S. equinus* presenta tre denti conici e *S. asini* presenta un unico dente bilobato. Le uova segmentate sono lunghe 75-92 e larghe 41-54 μm a seconda del genere e della specie, fatta eccezione per le uova di *Triodontophorus* che sono circa il doppio delle tipiche uova di strongili intestinali.

Ciclo biologico e segni clinici

È diretto (non prevede la presenza di ospiti intermedi) schematizzato nella figura che segue. Il periodo di prepatenza (periodo che intercorre dall'infezione fino all'eliminazione delle uova con le feci) all'interno di questo genere può variare da 6 mesi (*S. vulgaris*) a 10-12 mesi (*S. edentatus*). I parassiti adulti vivono nel cieco e nel colon e le femmine depongono le uova in sede intestinale, queste passano nell'ambiente esterno attraverso le feci dove schiudono e liberano una larva di primo stadio (L_1), che matura a larva di secondo stadio (L_2) e quindi a larva di terzo stadio (L_3) che rappresenta l'elemento infettante. Il periodo di sopravvivenza nell'ambiente esterno è condizionato da fattori ambientali quali temperatura ed umidità.



S. vulgaris - Dopo l'ingestione, la L_3 in seguito a stimoli chimici presenti a livello intestinale, si libera del suo strato protettivo e inizia la fase interna di sviluppo ed in seguito a complesse migrazioni caratteristiche per ogni specie matura a parassita adulto nella mucosa e nella sottomucosa dell'ileo, del cieco e del colon ventrale causando edema e dilatazione delle piccole arterie, vene e capillari. Trascorsi quattro-cinque giorni dall'infezione, la L_3 muta a L_4 , la quale penetra nelle arteriole a livello della sottomucosa per poi migrare a livello del sistema circolatorio dell'intestino. Tra l'undicesimo e il quattordicesimo giorno post-infezione la L_4 raggiunge le arterie ileo-cieco-coliche e l'arteria mesenterica craniale. Dopo un periodo di sviluppo di circa 3-4 mesi, la L_4 muta a L_5 e queste ritornano in sede intestinale dove si incapsulano in noduli delle dimensioni di 5-8 mm. Dopo la rottura dei noduli, i giovani parassiti si portano sulla mucosa intestinale e dopo 6-8 settimane, nel lume intestinale, le L_5 sviluppano ad adulti sessualmente maturi. Il periodo di prepatenza è di circa 6-7 mesi. In rare occasioni, in seguito a migrazioni aberranti delle larve, possono essere presenti lesioni in altre sedi del sistema arterioso come ad esempio a carico dell'arteria spermatica, dell'arteria femorale ed iliaca esterna. Si possono inoltre riscontrare delle migrazioni aberranti con localizzazione a livello spinale e cerebrale con conseguente sintomatologia nervosa.

S. edentatus - Dopo l'ingestione la L_3 si libera della cuticola della L_2 a livello della porzione terminale del piccolo intestino, del cieco e del colon e penetra nella mucosa intestinale. Le larve raggiungono il parenchima epatico attraverso il sistema portale. Dopo circa due settimane la L_3 muta ad L_4 la quale riprende la migrazione al di sotto della glissoniana fino a raggiungere il legamento epato-renale dove le larve si possono rinvenire, 6-8 settimane dopo l'infezione, sotto la lamina peritoneale. Le L_4 continuano la migrazione mantenendosi sotto la lamina del peritoneo e si concentrano nella regione dei fianchi e nei legamenti epatici. In questa sede in circa 3-4 mesi avviene la maturazione a pre-adulti (L_5) ed i giovani parassiti migrano, sempre sotto il peritoneo, fino a raggiungere la parete intestinale del cieco e del co-

lon dove danno luogo a grossi noduli con essudazione purulenta. Successivamente, le larve fuoriescono dai noduli e si liberano nel lume intestinale sviluppando poi a parassiti adulti.

Il periodo di prepatenza è di circa 10-12 mesi, ma può essere anche più breve e durare circa 6 mesi.

S. equinus - Dopo essere stata ingerita, la L₃ provoca la formazione di noduli a livello dello strato muscolare e sottosieroso del grosso intestino; in questi noduli muta a L₄, la quale migra attraverso la cavità peritoneale sino al fegato. In questa sede la L₄ effettua una serie di migrazioni per circa 6 mesi. Dopo questo periodo è possibile rinvenire a livello pancreatico le L₄ e le L₅ che migrano nuovamente in sede intestinale. I parassiti adulti si riscontrano a livello del colon ventrale di destra e del cieco e non sono di così comune riscontro come *S. vulgaris* e *S. edentatus*.

Il periodo di prepatenza è di circa 8-9 mesi.

S. asini - Il ciclo di questo parassita non è ben noto. In seguito ad infezione sperimentale di 3 equidi domestici (un cavallo, un asino ed un mulo) ed un equide selvatico (una zebra), l'asino e la zebra si sono dimostrati gli ospiti maggiormente sensibili ed entrambi hanno manifestato debilitazione nella fase terminale dello studio. Noduli ascrivibili alla presenza del parassita sono stati rinvenuti a livello della vena porta con una maggiore prevalenza nella zebra rispetto all'asino, nel quale invece fenomeni tromboembolici si sono manifestati a carico di questo vaso. Questo potrebbe spiegare che parte dello sviluppo larvale di *S. asini* si svolge a livello della vena porta. Se così fosse, questo quadro patologico potrebbe essere paragonato all'endoarterite provocata dalle larve in migrazione di *S. vulgaris* a carico dell'arteria mesenterica craniale. Alla macellazione, 117-125 giorni post infezione, le L₄ di *S. asini* sono state rinvenute a livello della vena porta e del fegato della zebra, del cavallo e dell'asino ma non del mulo. In base a questo studio il ciclo biologico di *S. asini* potrebbe essere schematizzato nel modo seguente: intestino – penetrazione a livello del sistema portale – migrazioni a livello del parenchima epatico – sistema portale – parassiti adulti nel cieco e nel colon (Malan et al., 1982).

Triodontophorus - si trovano in “ammassi” intorno ad ulcere nel colon e concorrono con gli altri SI alla comparsa di disturbi intestinali. Il ciclo biologico è molto simile a quello dei Cyathostomi come descritto in seguito, con un periodo di prepatenza di 4 mesi.

L'azione patogena delle forme adulte di *S. vulgaris* (come quella degli altri strongili) è associata alle abitudini alimentari dei parassiti responsabili di danni alla mucosa del grosso intestino e, occasionalmente, della rottura dei vasi sanguigni. I parassiti adulti possono causare diarrea, febbre, edema, anemia e perdita di peso. La patogenicità di *S. vulgaris* è però da attribuire principalmente agli stadi larvali e alla loro migrazione che causa endoarteriti nell'arteria mesenterica e nelle sue diramazioni. Gli stadi larvali di *S. vulgaris*, trascorrendo gran parte del loro tempo nell'arteria mesenterica craniale e le sue principali diramazioni, provocano reazioni infiammatorie (endoarteriti) a carico di questi vasi sanguigni rappresentando un fattore predisponente per l'insorgenza di coliche. Anche se nell'asino la patogenesi di *S. vulgaris* non è stata ampiamente studiata, sono stati riscontrati effetti simili a quelli descritti nel cavallo; tuttavia nella specie asinina la frequenza di fenomeni colici correlati all'infezione da *S. vulgaris* è inferiore (13% asino vs 88% cavallo). L'arterite verminosa (arterite tromboembolica) rappresenta l'infiammazione dell'arteria mesenterica craniale causata dalle larve di *S. vulgaris* ed è caratterizzata da lesioni endoteliali e formazione di trombi nel lume vascolare. Il termine “aneurisma verminoso” si riferisce ad uno sfiancamento della parete vasale in seguito alla migrazione larvale. La migrazione delle larve di *S. equinus* e *S. edentatus* causa lesioni al fegato e talvolta peritoniti. È da sottolineare l'ampia diffusione di *S. vulgaris* nelle aziende asinine in Italia (Buono, 2018), parassita che più raramente si rinviene nelle scuderie di cavalli.

CYATHOSTOMINAE (PICCOLI STRONGILI – PS)

I piccoli strongili sono i principali endoparassiti che infettano sia asini che cavalli e studi recenti condotti sugli asini hanno dimostrato prevalenze sino al 100% (Buono, 2018).

Descrizione del parassita

Questi nematodi si localizzano nel grosso intestino e causano scarso rendimento e gravi enteriti. La capsula buccale dei PS è corta, di forma cilindrica o anulare ed il corpo di questi elminti è più piccolo di quello dei “grandi strongili” (6-20 mm) anche se alcune specie (*Cylicocyclus*) possono raggiungere i 25 mm di lunghezza (Lichtenfels et al., 2008).

Le 50 specie (di cui 10 sono state isolate esclusivamente nell’asino) appartenenti alla sottofamiglia Cyathostominae sono suddivise in 14 generi: *Cyathostomum*, *Coronocyclus*, *Cylicocyclus*, *Cylicodontophorus*, *Tridentoinfundibulum*, *Cylicostephanus*, *Skrjabinodontus*, *Petrovinema*, *Parapoteriostomum*, *Poteriostomum*, *Gyalocephalus*, *Hsiungia*, *Caballonema* e *Cylindropharynx*. *Cylicocyclus asinus* rappresenta, nell’asino, la specie più recentemente descritta ed è stata rinvenuta nel colon ventrale di sette asini domestici allevati nel sud Africa.

Le uova misurano 100-110 x 40-45 µm e non sono differenziabili da quelle dei GS.

Ciclo biologico e segni clinici

I PS non hanno un ciclo biologico associato a grandi migrazioni come quelle descritte per i GS ed infatti i parassiti migrano solo nell’intestino.

A tutt’oggi non sono stati descritti in dettaglio i cicli di ciascuna specie per cui, quanto di seguito esposto può essere considerato valido per tutti i membri della sottofamiglia. La fase di sviluppo sui pascoli, da uovo a larva infettante L₃ è sovrapponibile a quanto riportato per i GS. Le L₃ dopo essere state ingerite raggiungono il piccolo intestino per poi penetrare nelle ghiandole di ileo, cieco e colon, dove si incistano formando piccoli noduli nello spessore della mucosa e della sottomucosa. Nella parete del grosso intestino le L₃ mutano ad L₄ per poi emergere nel lume intestinale dove sviluppano a L₅ e dopo a parassita adulto. Questi elminti sembra che abbiano diversi siti preferenziali a livello del grosso intestino a seconda della specie. Risulta interessante che gli adulti si trovano solitamente in una sede distante dal sito preferito dagli stadi larvali della stessa specie. Sembra, quindi, che i PS attuino una retromigrazione nel corso della loro maturazione. Il periodo prepatente è di circa 2-3 mesi.

I cyathostomi, differiscono però, dagli altri nematodi intestinali degli equidi in quanto oltre al classico ciclo biologico, che potremmo definire “veloce”, si aggiunge un ciclo “lento” nel quale le larve di terzo stadio possono arrestarsi nella mucosa dell’animale per lunghi periodi (tra i 4 mesi ed i 2 anni). Nei Paesi a clima temperato la maggiore infezione delle larve avviene durante la stagione del pascolo e le larve si incistano nei mesi più freddi. Con l’arrivo della stagione calda le larve possono emergere “in massa”. In passato i PS erano considerati poco o non patogeni. Questa convinzione da parte dei medici veterinari coinvolti nel settore ippiatrico era, probabilmente, dovuta alla drammatica sintomatologia osservata nei soggetti affetti, invece, da *S. vulgaris*. Tuttavia, il “declino” di questo grande strongilo e l’aumento di PS resistenti agli antielmintici nel corso degli ultimi decenni ha determinato un cambiamento nella percezione della patogenicità dei PS. Oggi i Cyathostomi sono considerati i nematodi più patogeni nel cavallo; questo probabilmente non è così vero nell’asino dove ancora vi è una notevole presenza anche di GS. I PS da adulti hanno una limitata importanza clinica, anche se possono determinare diarrea. Come per i GS, gli stadi larvali sono invece responsabili della maggior parte dei danni. Nella mucosa e nella sottomucosa le larve sono circondate da una capsula fibrosa e ci può essere una reazione infiammatoria. L’emergere delle larve nel lume intestinale causa rottura della muscolare e della mucosa. La sindrome clinica, definita *cyatho-*

stomiasi larvale, può verificarsi in seguito alla riattivazione contemporanea di più larve inibite e il successivo riversamento di L₄ nel lume intestinale. La sintomatologia è caratterizzata da: diarrea profusa ad esordio improvviso che può diventare cronica, debolezza, edema sottocutaneo (arti e addome). Nel cavallo, la morte del soggetto parassitato è relativamente comune con una prevalenza del 50%; nell'asino la mortalità dovuta alla asino la mortalità dovuta alla cyathostomiasi larvale, non è ben nota, tuttavia sembrerebbe essere inferiore rispetto a quella del cavallo (Matthews e Burden, 2013).



Foto 3 - Uova di SI (10x).



Foto 4 - L₃ di *S. vulgaris* (20x).

Diagnosi

L'esecuzione di esami coprologici previa flottazione permette di rilevare le tipiche uova degli strongili intestinali (SI) dalla parete sottile (Foto 3); non è possibile però identificare dalle uova il genere o la specie che parassitano gli animali, è necessario allestire delle coproculture per la identificazione delle larve di terzo stadio (L₃) (Foto 4).

Controllo

Per il trattamento della strongilosi intestinale nell'asino si possono utilizzare gli antelmintici registrati per il cavallo, come indicato nelle tabelle sottostanti.

Grandi Strongili	Pyrantel	Fenbendazolo	Ivermectina	Moxidectina	Praziquantel
Adulti	+	+	+	+	-
Larve nel lume intestinale (non mucosali)	-	+	+	+	-
Larve in migrazione (L ₄ e L ₅)	-	+	+	+	-
		(dose maggiore – 10 mg/kg x 5 giorni)			

Piccoli Strongili	Pyrantel	Fenbendazolo	Ivermectina	Moxidectina	Praziquantel
Adulti	+	+	+	+	-
Larve nel lume intestinale (non mucosali)	-	-	+	+	-
Larve incistate: inibite (EL ₃) ed in sviluppo (L ₄ e L ₅)	-	+	-	+	-
		(dose maggiore – 10 mg/kg x 5 giorni)			

ASCARIDI (*PARASCARIS* SPP.)

È un parassita di grosse dimensioni, che infetta cavallo ed asino a distribuzione cosmopolita. Nel cavallo sono colpiti principalmente i puledri, mentre i soggetti adulti sviluppano immunità. Nell'asino la situazione appare differente; come per gli SI anche gli studi epidemiologici sulle infezioni sostenute da *Parascaris* spp. sono stati condotti principalmente in Africa con prevalenze superiori al 40% in quasi la metà delle indagini. È da notare, invece che negli studi condotti in Europa le positività sono più basse risultando quasi sempre al di sotto del 20%; questo potrebbe essere associato al diverso management degli asini che in Europa sono sicuramente meglio gestiti da un punto di vista sanitario.



Foto 5 - Uova di *P. equorum* (20x) – a: corticato; b: decorticato.

Descrizione del parassita

Gli ascaridi sono nematodi di grandi dimensioni (20 cm il maschio, 40 cm la femmina) con tre labbra spesse a forma di cuore e privi di capsula buccale.

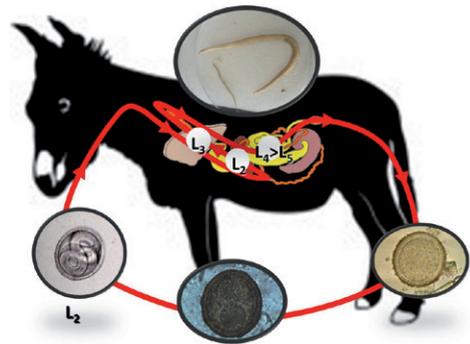
Le uova (100 x 90 mm) presentano guscio spesso e scuro con superficie granulata che rappresenta un guscio proteinaceo (uova corticate) oppure essere chiare con superficie liscia e quindi prive di questo guscio (decorticate) (Foto 5); il significato delle uova decorticate non è ancora chiarito.

Ciclo biologico e segni clinici

Lo sviluppo di questo nematode è di tipo diretto ed è schematizzato nella figura che segue.

Le femmine adulte rilasciano le uova nel lume intestinale dell'asino che sono poi disseminate nell'ambiente con le feci.

All'interno delle uova si sviluppa dai 10 giorni ai 6 mesi (in base alla temperatura) la larva di secondo stadio L_2 . Le uova larvate (elemento infettante) una volta ingerite liberano la L_2 che penetra nella parete intestinale e attraverso il sistema circolatorio raggiunge il fegato e poi i polmoni. Le larve di terzo stadio (L_3) risalgono la trachea, vengono deglutite, per poi mutare a L_4 - L_5 e parassita adulto nel piccolo intestino. Le larve durante le migrazioni creano danni al fegato e causano problemi respiratori. Il periodo di prepatenza è di circa 3 mesi. Infezioni massive possono provocare riduzione della crescita, scadimento generale e diarrea. I parassiti adulti possono causare occlusione intestinale associata a colica e talvolta rottura dell'intestino.



Diagnosi

L'esecuzione di esami coprologici per flottazione permette di identificare le uova di ascaridi nelle feci.

Controllo

Per il trattamento della ascaridiosi nell'asino si possono utilizzare gli antelmintici registrati per il cavallo come indicato nella tabella seguente.

Pyrantel	Fenbendazolo	Ivermectina	Moxidectina	Praziquantel
+	+(dose maggiore 10 mg/kg)	+/- Anche larve (casi di antielmintico resistenza nel cavallo)	+/- Anche larve (casi di antielmintico resistenza nel cavallo)	-

Nel corso del primo anno di vita, secondo le recenti linee guida dell'ESCAAP (GL8) bisognerebbe effettuare 4 trattamenti antiparassitari: il primo a 2 mesi preferibilmente con fenbendazolo, il secondo intorno ai 5 mesi sempre con fenbendazolo o pyrantel, il 3 ed il 4 rispettivamente intorno agli 8 e ai 12 mesi valutando tramite esame coprologico se utilizzare un farmaco attivo principalmente verso gli ascaridi o verso gli strongili intestinali. Nei puledri con un'alta carica parassitaria, farmaci neurotossici quali il pyrantel ed i lattoni macrociclici non dovrebbero essere utilizzati a causa dell'elevato rischio di colica post-trattamento, causata dall'impaccamento dovuto alla morte dei nematodi per paralisi. I trattamenti antiparassitari dovrebbero essere accompagnati dall'igiene delle scuderie e dei pascoli. Nell'usare i disinfettanti bisognerebbe prediligere quelli che risultano efficaci nei confronti delle uova di questo parassita ad esempio disinfettanti a base di cresolo o acido paracetico. La rimozione delle deiezioni, il rinnovo delle lettiera e alimentare gli animali non direttamente da terra possono ridurre il rischio di infezione da ascaridi.

STRONGYLOIDES WESTERI

È un parassita che infetta principalmente i puledri (cavallo ed asino) fino ai 15-20 giorni di vita. Studi condotti nell'asino riportano prevalenze che variano dal 2,2% (in Germania) al 77,8% in Etiopia. In Italia è stato riportato con una prevalenza estremamente bassa (<1%) (Buono, 2018).



Foto 6 - Uovo di *S.westeri* (40x).



Foto 7. Allattamento: possibile via di trasmissione di *S.westeri*.

Descrizione del parassita

Nematode filiforme di piccole dimensioni, nel cui ciclo biologico si alternano femmine partenogenetiche a fase parassitaria e maschi e femmine a vita libera. I parassiti a vita libera lunghi circa 1 mm hanno un esofago con una dilatazione bulbare, che è un vero bulbo inghiottitore (*rabditoide*). Le femmine partenogenetiche sono più lunghe di quelle a vita libera (4-6 mm); inoltre il loro esofago è filariforme (*strongiloide*) e occupa un terzo della lunghezza

za del corpo. La loro sede definitiva è la mucosa dell'intestino tenue. Le uova sono di piccole dimensioni (40-50 x 30-40 µm) e sono eliminate nell'ambiente "larvate" con all'interno la L₁ (Foto 6).

Ciclo biologico e segni clinici

Strongyloides ha un ciclo biologico differente dagli altri nematodi intestinali. I parassiti adulti possono avere un ciclo a vita libera e riprodursi in modo eterogonico (con l'accoppiamento dei due sessi). Dalle uova nate da questo accoppiamento, si sviluppano larve anch'esse a vita libera. Queste larve danno origine a una successiva generazione eterogonica di nematodi non parassiti. Per cause poco note (forse condizioni ambientali sfavorevoli), alcune uova, producono larve delle quali la L₃ è parassita obbligato. Questa è in grado di penetrare attraverso la cute dell'ospite (talvolta per bocca) e, con il sistema circolatorio raggiunge i polmoni, risale la trachea ed arriva nell'intestino tenue. Nel canale intestinale, completa il suo sviluppo, dando origine ad una femmina partenogenetica. Questa (in assenza di maschio) produce uova che, eliminate all'esterno con le feci (già larvate) possono dare origine ad una nuova generazione parassita (ciclo omogonico), oppure ad una generazione non parassita (ciclo eterogonico). Nelle cavalle, e presumibilmente anche nell'asino, è stato documentato una localizzazione di larve nel tessuto mammario che determina l'infezione dei puledri attraverso l'assunzione del colostro e del latte (Foto 7). Nei puledri elevate infezioni possono determinare diarrea. Il periodo di prepatenza è di 8-14 giorni a prescindere dalla modalità di trasmissione.

Diagnosi

L'esecuzione di esami coprologici per flottazione permette di identificare le uova larvate di *Strongyloides* nelle feci.

Controllo

Per il trattamento della strongiloidosi nell'asino si possono utilizzare gli antelmintici registrati per il cavallo come indicato nella tabella sottostante. L'igiene del pascolo e delle scuderie, associati alla pulizia delle mammelle della fattrice dovrebbe ridurre il rischio di contaminazione ambientale e l'infezione del puledro. Il trattamento della madre prima del parto può ridurre l'infezione trans-mammaria.

Pyrantel	Fenbendazolo	Ivermectina	Moxidectina	Praziquantel
Non specificato	+	+	+	-
	(dose maggiore 50 mg/kg)			

OXYURIS EQUI

È un parassita che si localizza nel grosso intestino di asini e cavalli ed è riportato in tutto il mondo.

I risultati di indagini eseguite in aziende asinine evidenziano prevalenze non particolarmente elevate (31,8% in Etiopia, 6,45% in Turchia e 9,7% Italia) (Buono, 2018).

Ha una limitata importanza da un punto di vista patologico, anche se le femmine possono causare intenso prurito anale durante la fase di ovodeposizione.



Foto 8 - Uova di *O. equi* (20x).

Descrizione del parassita

È un nematode di piccole dimensioni (1 cm il maschio, 10-15 cm la femmina) di colore bianco-grigiastro con una coda molto lunga, simile ad uno spillo. Le uova (80-95 x 40-45 mm), sono leggermente appiattite da un lato (Foto 8).

Ciclo biologico e segni clinici

Lo sviluppo di questo parassita è diretto ed è schematizzato nella figura che segue. *Oxyuris equi* vive da adulto nel colon, una volta fecondata, la femmina si sposta verso l'apertura anale, intorno alla quale depone le uova in piccoli gruppi che, miste a muco formano nella regione perianale delle strie gelatinose giallo-biancastre. Lo sviluppo è rapido e dopo 4-5 giorni le L₃ si rinvergono all'interno dell'uovo. L'infezione avviene per ingestione delle uova, con all'interno la larva, attraverso il foraggio o per leccamento di superfici contaminate. Le larve si liberano nell'intestino tenue, si portano nel grosso intestino e qui diventano adulti. Il periodo di prepatenza è di 4-5 mesi. La parassitosi ha scarsa importanza clinica. Gli ossiuri a livello intestinale raramente determinano sintomi; nel cavallo l'intenso prurito anale fa sì che l'animale sia irrequieto, non si alimenta adeguatamente e sfrega spesso il posteriore e l'attacco della coda che si presenta con i peli spezzati ed aree di alopecia (c.d. coda di ratto). Negli asini, lo sfregamento non appare essere così frequente (Foto 9).

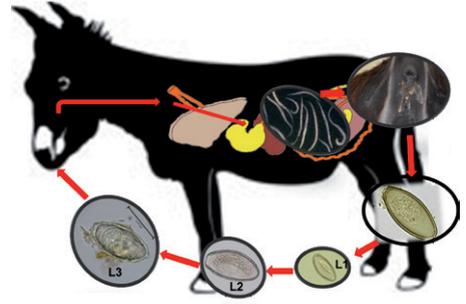


Foto 9 - Lesioni da *O. equi* in un asino.

Diagnosi

L'esecuzione di esami coprologici per flottazione e la tecnica dello scocht test (nastro adesivo trasparente da applicare alla regione perianale) permettono di riscontrare le tipiche uova degli ossiuri.

Controllo

Per il trattamento della ossiuriasi nell'asino si possono utilizzare gli antelmintici registrati per il cavallo come indicato nella tabella sottostante.

Pyrantel	Fenbendazolo	Ivermectina	Moxidectina	Praziquantel
+	+	+ Anche larve	+ Anche larve	-

Matthews e Burden (2013) riportano una ridotta efficacia nel controllo dell'ossiuriasi nell'asino sia per il pyrantel sia per l'ivermectina.

Oltre al trattamento antelmintico, è buona norma pulire la regione perianale con una spugna e/o carta monouso per ridurre la trasmissione degli ossiuri e, dove possibile, le pareti delle scuderie.

GASTEROFILI

Sono ditteri (mosche) del genere *Gasterophilus* che allo stadio di larva si localizzano in diversi tratti dell'intestino di asini e cavalli causando miasi gastrointestinale. Le specie più comuni nell'asino sono *G. intestinalis* e *G. nasalis* con prevalenze molto alte (>90% in studi condotti in Africa).

Descrizione del parassita

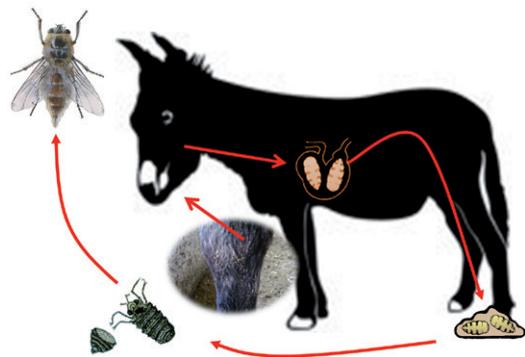
I gasterofili adulti sono mosche di 13-16 mm di lunghezza ricoperte da una peluria giallastra simili alle api, le larve che si localizzano nell'intestino sono cilindriche (lunghe 16-20 mm), di colore rossastro, presentano due uncini buccali e differenti file di spine sul corpo che ne consentono la differenziazione di specie (Foto 10).



Foto 10 - Larve di Gasterofili.

Ciclo biologico e segni clinici

Lo sviluppo è schematizzato nella figura che segue. Gli insetti adulti hanno una vita molto breve e, sono attivi principalmente nei mesi estivi (giugno-settembre). Dopo l'accoppiamento, le femmine depongono le uova sui peli del mantello degli asini (arti, addome, petto) dalle quali schiudono in pochi giorni piccole larve biancastre che, direttamente o per leccamento raggiungono la cavità orale. In questa sede mutano da larve di I a larve di II stadio per poi raggiungere l'apparato digerente con differenti localizzazioni a seconda della specie (predilezione per stomaco, duodeno e retto); qui le larve mutano a III stadio e rimangono fissate alla mucosa intestinale per 8-10 mesi, per poi essere espulse nell'ambiente con le feci. In pochi giorni si impupano nel terreno e, dopo qualche settimana, diventano insetti adulti. L'infezione decorre spesso in maniera asintomatica, specialmente se



sono presenti poche larve. Nelle infezioni gravi a livello gastrico si possono avere occlusione del piloro con coliche e, raramente, rottura dello stomaco. Possono riscontrarsi anche stomatiti e gengiviti con rifiuto di cibo e progressivo deperimento. La presenza di larve attaccate alla mucosa del retto può causare severa irritazione fino al prolasso rettale (Foto 11). Possono essere presenti lesioni alla coda simili a quelle descritte per *Oxyuris equi*.

Diagnosi

Non è facile eseguire una diagnosi se non si evidenziano le larve rossastre nelle feci; la presenza di uova sui peli specialmente in estate/autunno può essere indicativa di infezione.

Controllo

Per il trattamento delle larve di Gasterofili nell'asino si possono utilizzare i farmaci registrati per il cavallo.



Foto 11 - Prolasso del retto con larve di Gasterofili.

Pyrantel	Fenbendazolo	Ivermectina	Moxidectina	Praziquantel
-	-	+	+	-

Risultano utili anche repellenti per le mosche da applicare sugli animali nel periodo estivo. Per ridurre l'infezione, si possono eliminare le uova deposte sui peli degli asini, mediante frequenti strigliature utilizzando pettini o "bot egg knife" e spugnature con acqua calda misciata con un insetticida per favorire la schiusa e l'uccisione delle larve.

DICTYOCAULUS ARNFIELDI

È un parassita che si localizza nelle vie respiratorie di asini, cavalli, muli e zebre ed è riportato in tutto il mondo, con prevalenze particolarmente elevate nell'asino (87% in Danimarca, 70% in Russia, 51% in Olanda, 48% in Marocco). In Italia il parassita ha una prevalenza di poco inferiore al 7% (Buono, 2018). Nell'asino raramente si associa a sintomi clinici; di contro nei cavalli, anche se raramente, raggiunge la maturità sessuale, *D.arnfieldi* determina manifestazioni cliniche. È interessante notare che il livello di eliminazione delle larve tende ad aumentare con l'età degli asini, è quindi ipotizzabile che in questo animale non si sviluppa immunità verso *D.arnfieldi*. L'asino è considerato l'ospite naturale di questo elminto ed i cavalli si possono infettare pascolando insieme con gli asini.



Foto 12 - L₁ di *D. arnfieldi* (40x).

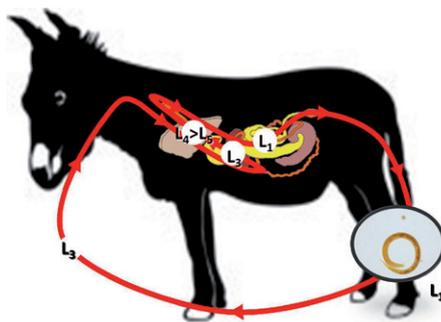
Descrizione del parassita

È un nematode di piccole dimensioni (3-4 cm il maschio, 5-7 cm la femmina) con orificio buccale munito di piccole papille. Le uova (80-100 x 50-60 mm) sono deposte con all'interno una larva di primo stadio.

Ciclo biologico e segni clinici

Lo sviluppo di questo parassita è di tipo diretto ed è schematizzato nella figura che segue; le larve infettanti L₃ sono assunte al pascolo e penetrate nella parete intestinale degli asini, passano nei linfonodi mesenterici per poi essere trasportate dal sistema circolatorio ai polmoni; attraverso i capillari raggiungono i bronchi ed i bronchioli e qui maturano ad adulti. Le femmine rilasciano uova larvate dalle quali schiudono le L₁ nell'intestino o appena eliminate con le feci (Foto 12), nell'ambiente queste maturano a L₃ in 2-3 giorni. Le larve sopravvivono sui pascoli per 2-4 settimane. Il periodo di prepatenza è di circa 3 mesi.

L'asino è spesso parassitato in maniera massiva, senza una sintomatologia manifesta, mentre nei cavalli i parassiti causano spesso bronchiti associate a difficoltà respiratorie, tosse e perdita di appetito.



Diagnosi

L'esecuzione nell'asino di esami coprologici con la metodica di Baermann permette di isolare le larve di primo stadio.

Controllo

Per il trattamento della dictiocaulosi nell'asino si possono utilizzare gli antelmintici registrati per il cavallo.

Pyrantel	Fenbendazolo	Ivermectina	Moxidectina	Praziquantel
+/- non completa efficacia	+/- non completa efficacia	+	+	-

I risultati di uno studio condotto in asini allevati in sud Italia hanno evidenziato totale efficacia (100%) dell'epinomectina applicata pour-on al dosaggio registrato per il bovino (0,5 mg/Kg di peso vivo) verso *D. arnfieldi* per 28 giorni dopo il trattamento (Veneziano et al., 2010). Il Pyrantel ha azzerato l'eliminazione delle larve solo per 14 giorni dopo il trattamento.

HABRONEMA (*H. MICROSTOMA*, *H. MUSCAE*, *HABRONEMA* [DRASCHIA] *MEGASTOMA*)

Sono nematodi che parassitano il cavallo e l'asino con biologia e azione patogena sovrapponibile e distribuzione cosmopolita.

Descrizione del parassita

I parassiti adulti sono di piccole dimensioni (1-2 cm i maschi; 1-3 cm le femmine) di colore biancastro traslucido e si localizzano nello stomaco. Le uova (80-95 x 40-45 µm) sono larvate con guscio sottile.



Foto 13 - "Piaga estiva" Habronemosi cutanea in un asino all'altezza del nodello.

Ciclo biologico e segni clinici

Lo sviluppo di questi nematodi è di tipo indiretto ed è molto simile per le tre specie. I parassiti adulti infettano lo stomaco degli asini. *Draschia* si localizza in rigonfiamenti simil tumorali nella parete gastrica. *Habronema* è libera sulla mucosa gastrica sotto uno strato di muco. *H. microstoma* e *D. megastoma* depositano larve (L₁), *H. muscae* rilascia uova contenenti larve. Le larve sono ingerite da alcune specie di Muscidae quali *Musca domestica* e *Stomoxys* (mosca della stalla) che sono deposte e maturano nelle feci. Le mosche (che si infettano allo stadio di larva) e le larve degli elminti, si sviluppano di pari passo: infatti le L₁ del nematode dopo aver infettato la larva della mosca mutano a L₃ infettante e rimangono nella mosca fino a quando essa non raggiunge lo stadio di insetto adulto. Quando la mosca adulta (parassitata dalle L₃) si posa sulle labbra, palpebre, narici e ferite cutanee degli asini, le larve di *Habronema* fuoriescono dall'apparato buccale dell'insetto. Di tutte le larve, le sole che evolvono a elminti adulti sono quelle che riescono a raggiungere lo stomaco dell'equide (principalmente per leccamento). Le larve maturano a parassiti adulti in circa due mesi.

Tutte le larve che non raggiungono il cavo orale e, non sono quindi deglutite non evolvono a parassiti adulti, ma danno origine a evoluzioni diverse a seconda della localizzazione. Le larve depositate nella zona perioculare determinano lesioni simil verrucose della congiuntiva accompagnata da secrezione oculare. Alcune larve possono migrare attraverso le cavità nasali ai polmoni dove possono essere intrappolate e formare noduli. Quando le larve sono deposte a livello di ferite cutanee determinano la Habronemosi cutanea (**piaga estiva**) che ha una maggiore importanza clinica. Le larve depositate sulle ferite migrano e si alimentano, estendendo la ferita e riducendo la cicatrizzazione. Queste lesioni, tendono a risolversi spontaneamente nel periodo invernale, ma spesso recidivano nella successiva stagione estiva quando sono presenti le mosche (Foto 13).

Diagnosi

L'esecuzione di esami coprologici non sempre assicura la diagnosi per il basso numero di uova e/o larve presenti.

Sono disponibili metodiche diagnostiche su base molecolare.

Trattamento e controllo

Per il trattamento della habronemosi nell'asino si possono utilizzare gli antelmintici registrati per il cavallo.

Pyrantel	Fenbendazolo	Ivermectina	Moxidectina	Praziquantel
Non specificato	Non specificato	+	+	-

La lotta alle mosche nei box e l'utilizzo di repellenti sugli animali possono ridurre l'infezione, il controllo dei parassiti con lattoni macrociclici a livello gastrico è importante al fine di ridurre il rischio e l'incidenza delle piaghe estive.

TENIE (*ANOPLOCEPHALA PERFOLIATA*, *A. MAGNA*, *PARANOPLOCEPHALA MAMMILANA*)

Le tenie o cestodi sono vermi piatti, ermafroditi, costituiti da una testa (scolice) e da un corpo composto da diversi segmenti (progliottidi). *Anoplocephala perfoliata*, *A. magna*, *Pa-*

ranoplocephala mammilana sono le specie che parassitano il cavallo e l'asino con una distribuzione cosmopolita.

A. perfoliata è la tenia più frequente nel cavallo, non vi sono molti dati nell'asino. Questi parassiti, però, un tempo considerati poco patogeni stanno assumendo importanza crescente nella pratica clinica. In Inghilterra, asini allevati come animali da compagnia hanno presentato una prevalenza di positività alle tenie dal 27 al 40%; risultati simili sono stati riscontrati anche in asini da lavoro in Etiopia, con una maggiore positività in animali al pascolo permanente. Una ricerca in Turchia riporta una prevalenza di circa il 10%. In Italia la prevalenza risulta più bassa pari all'1% (Buono, 2018).



Foto 14 - Infezione da *Anoplocephala* spp. (C. Roncoroni).



Foto 15 - Uovo di *Anoplocephala* spp. (40x).

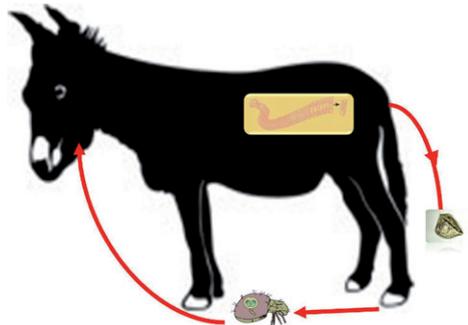
Descrizione del parassita

A. perfoliata è una tenia di 4-8 cm di lunghezza, di forma ellissoidale con scolice privo di uncini, si localizza a livello del cieco e della porzione terminale dell'ileo (valvola ileo-cecale) (Foto 14). *A. magna* ha una forma molto simile alla precedente ma è di maggiori dimensioni (80 cm) e si localizza nel piccolo intestino. *P.mammilana* è di piccole dimensioni (1-4 cm di lunghezza) e si localizza nell'intestino tenue, talvolta nello stomaco. Le uova delle tenie degli equidi (50-80 mm) sono di forma sferica o triangolare (Foto 15).

Ciclo biologico e segni clinici

Lo sviluppo è di tipo indiretto ed è schematizzato nella Figura che segue; le tenie rilasciano nell'intestino degli asini le proglottidi gravide, queste spesso, si disgregano direttamente nel canale intestinale e liberano le uova che espulse con le feci sui pascoli sono ingerite da acari oribatidi presenti nell'ambiente. In questi acari si sviluppa la larva cisticercoide (in 2-4 mesi). Gli asini si infettano ingerendo, insieme con il foraggio, gli acari con all'interno i cisticercoidi. I parassiti adulti si sviluppano in 1-2 mesi. Il ruolo patogeno dei cestodi negli equidi è stato per molto tempo considerato limitato, attualmente le tenie sono considerate nel cavallo tra le cause principali di colica ed ostruzione intestinale.

Lesioni simili, con ulcerazioni ed ostruzioni della valvola ileocecale sono descritte anche nell'asino.



Diagnosi

Gli esami coprologici per flottazione permettono di identificare le caratteristiche uova nelle feci. Oltre alle metodiche coprologiche, un ELISA sierologico è attualmente disponibile per la determinazione degli anticorpi verso gli antigeni escretori/secretori (12/13 kDalton) di *A. perfoliata*. Questo test ELISA è stato validato con la determinazione della sensibilità (68%) e specificità (95%) correlati ad una popolazione elmintica nota (Proudman e Trees, 1996). Recentemente alcuni studi hanno inoltre dimostrato che esami sulla saliva (test salivare Equisal) sono altamente sensibili per la diagnosi di cestodosi nei cavalli (Lightbody et al., 2018).

Controllo

Per il trattamento delle teniasi nell'asino si possono utilizzare gli antelmintici registrati per il cavallo.

Pyrantel	Fenbendazolo	Ivermectina	Moxidectina	Praziquantel
+	Non specificato	-	-	+
(2 x dose standard)				

Il farmaco di elezione è il praziquantel. Il pyrantel è efficace al dosaggio doppio di quello utilizzato verso gli strongili; dosi elevate sono controindicate in asini con insufficienza epatica. Le strategie di controllo dovrebbero essere correlate alle condizioni climatiche regionali; bisognerebbe inoltre valutare il management aziendale al fine di accertare l'importanza delle infezioni da tenia e la presenza degli acari Oribatidi.

FASCIOLA HEPATICA

È un trematode ermafrodita, non segmentato, di colore grigio scuro che infetta saltuariamente l'asino ed il cavallo. Da adulto vive nei dotti biliari, principalmente dei ruminanti ed anche di equidi, suidi e talvolta dell'uomo. Nell'asino *F. hepatica* è stata riportata con prevalenze del 16% in Turchia, 18% in Egitto ed in aree endemiche le positività sono rilevanti, 17% in Irlanda e 45% in Etiopia (Matthews e Burden, 2013). Studi in Bolivia hanno dimostrato che, dopo i ruminanti, l'asino è l'ospite definitivo più frequente e ha un ruolo importante nella trasmissione di questa zoonosi all'uomo. In Italia questo parassita non è stato mai riportato nell'asino.



Foto 16 - Adulti di *F. hepatica*.

Descrizione del parassita

È di colore bruno, presenta corpo appiattito (2-3 x 1 cm), somigliante ad una foglia di salvia (Foto 16).

Le uova (130-145 x 70-90 μm) opercolate sono di colore giallo-verdastro.

Ciclo biologico e segni clinici

È di tipo indiretto, con ospite intermedio (*Lymnaeidae*) piccole lumache d'acqua dolce. I parassiti adulti sono ermafroditi e nei dotti biliari degli animali depongono le uova che con le feci raggiungono il mondo esterno. Nell'uovo, si forma un miracidio munito di cilia che, deve penetrare nella lumaca per continuare il ciclo. Nella lumaca hanno luogo una serie di moltiplicazioni (sporocisti, redia e cercaria). La cercaria, munita di coda, fuoriesce dal mollusco, si fissa agli steli d'erba trasformandosi in metacercaria, che sopravvive a lungo sui pascoli in ambiente umido. Gli asini si infettano ingerendo, insieme alle erbe, le metacercarie incistate le quali, una volta nell'intestino liberano le forme giovanili (adolescarie) che migrano nel parenchima epatico. Nell'asino la malattia spesso è cronica e subclinica; gli animali presentano anemia, edemi, perdita di peso e scarse performances.

Diagnosi

L'esecuzione di esami coprologici per flottazione con soluzioni ad elevato peso specifico e la tecnica della sedimentazione permettono di riscontrare le uova nelle feci.

Trattamento e controllo

F. hepatica risulta essere sensibile ai Benzimidazolici, Probenzimidazolici, derivati del Fenolo e Salicilanilidici. Negli equidi nessun farmaco è registrato per il trattamento di *F. hepatica*. Il controllo degli ospiti intermedi, le lumache, limita il diffondersi di questa parassitosi.

COCCIDI (*EIMERIA*)

I coccidi sono parassiti microscopici (protozoi) di solito specie-specifici; fa eccezione *Eimeria leuckarti* che infetta sia il cavallo che l'asino localizzandosi a livello del piccolo intestino. Sono colpiti principalmente i puledri e talvolta i soggetti adulti. *E. leuckarti* è stata segnalata sporadicamente negli asini negli Stati Uniti ed in Europa. In Italia, negli asini, è stata riportata con una prevalenza di circa l'1% (Buono et al., 2016).

Descrizione del parassita

Le oocisti sono piriformi di piccole dimensioni (80 x 60 mm), presentano parete spessa e scura con un evidente micropilo (Battelli et al., 1995) (Foto 17).

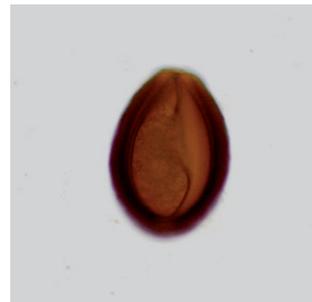


Foto 17 - Oocisti di *E. leuckarti* (40x).

Ciclo biologico e segni clinici

Lo sviluppo di questo coccide non è ancora del tutto chiarito. Vi sono delle fasi di moltiplicazione nelle cellule dell'intestino tenue degli animali infetti che causano danni all'epitelio intestinale con conseguente diarrea. In molti casi la parassitosi può essere asintomatica. Il periodo di prepatenza è di 12-32 giorni e le infezioni si manifestano principalmente nei puledri piuttosto che nei soggetti adulti (Dubey e Bauer, 2018).

Diagnosi

L'esecuzione di esami coprologici per sedimentazione e per flottazione con soluzioni ad elevato peso specifico permettono di riscontrare le oocisti nelle feci.

Trattamento e controllo

I coccidi risultano sensibili ai sulfamidici.

FARMACI ANTIELMINTICI

In Italia sono disponibili numerose molecole ad azione antielmintica registrate per il cavallo, nessun farmaco antielmintico risulta attualmente disponibile per l'asino. Sembra che gli asini abbiano una capacità maggiore di metabolizzare alcune molecole a causa di una diversa attività degli isoenzimi citocromo P450; per questo motivo è possibile ipotizzare che, nell'asino e nel cavallo, ci siano delle differenze sulla biodisponibilità dei farmaci somministrati che richiedono una modifica dei dosaggi e della frequenza di somministrazione (Lizzaraga et al., 2004). Tuttavia, in assenza d'informazioni specifiche, anche se ad oggi si mutano nella pratica i dosaggi utilizzati nel cavallo, sarebbe necessario effettuare degli studi *ad hoc* sulle principali classi farmacologiche di antielmintici.

Dalla tabella "Antielmintici per equini disponibili in Italia" si evince che sul mercato italiano sono presenti 18 formulazioni per il trattamento degli endoparassiti degli equidi. Queste formulazioni comprendono 5 principi attivi, appartenenti a 4 differenti classi farmacologiche.

Seguono cenni sul meccanismo d'azione delle diverse classi farmacologiche e sulle formulazioni che possono essere utilizzate negli allevamenti di equidi in Italia.

Tetraidropirimidine

Le Tetraidropirimidine (pyrantel pamoato) hanno azione simile alla acetilcolina (neurotrasmettitore che regola la contrazione muscolare) agendo come agonisti sugli stessi recettori. L'azione della acetilcolina sulle cellule nervose è di breve durata, in quanto è rapidamente degradata da un enzima specifico (acetilcolinesterasi). Il pyrantel causa un effetto contrattile sulla muscolatura del parassita simile all'acetilcolina, ma irreversibile e con una potenza di circa 100 volte maggiore. Ne consegue una paralisi spastica dell'elminta, che non si alimenta e muore. Il pyrantel presenta un elevato margine di sicurezza in quanto scarsamente assorbito a livello intestinale ed una rapida azione sui parassiti, ma solo sugli adulti (strongili ed ascaridi) e non sugli stadi larvali. A doppio dosaggio è attivo verso le tenie. In Italia è commercializzato in pasta (*Strongid, Pfizer Italia Srl Div.Vet.*), (*Strike Pasta, Acme*) ed in polvere granulata (*Antielmintico cavalli, Candioli*), (*Strike granulato, Acme*).

Benzimidazolici

Questi farmaci interferiscono con il metabolismo energetico del parassita a livello cellulare; le molecole si legano ad una proteina (tubulina) e non consentono la formazione dei microtubuli, strutture cellulari essenziali per il metabolismo energetico del parassita. I Benzimidazolici agiscono anche sulle uova dei parassiti, caratteristica che non presentano le altre classi di farmaci. I Benzimidazolici sono efficaci verso gli ascaridi, gli strongili intestinali (adulti e larve) e nematodi polmonari, non agiscono verso i gasterofili. Formulazioni in pasta sono registrate in Italia per i cavalli a base di fenbendazolo (*Panacur Pasta, MSD Animal Health*); quest'ultimo principio attivo è disponibile per i cavalli ed i bovini anche in sospensione orale (*Panacur 10%, MSD Animal Health*).

Isochinolinici

Praziquantel è l'unico componente di questa classe farmacologica. Presenta uno spettro d'azione specifico, agisce unicamente verso i cestodi. La molecola provoca danno al tegu-

mento della tenia che non riesce più ad alimentarsi oltre che una paralisi spastica della muscolatura del parassita.

Il praziquantel, come meglio specificato dopo, è commercializzato in associazione con ivermectina e moxidectina.

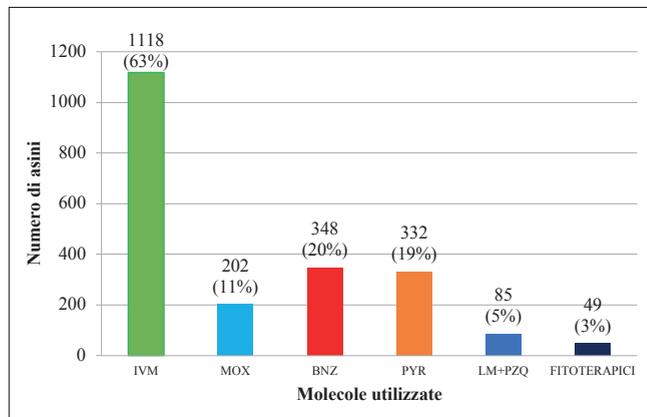
Lattoni Macro ciclici

Queste molecole agiscono su siti specifici delle cellule nervose e muscolari dei parassiti, interferendo sulla trasmissione dell'impulso nervoso alla muscolatura, ne consegue una paralisi flaccida ed una incapacità ad alimentarsi del parassita. Nel particolare i farmaci si legano ai canali ionici cloro-glutamato-dipendenti delle cellule nervose e muscolari dei parassiti. Questo determina un aumento della permeabilità delle membrane cellulari agli ioni Cl⁻ con iperpolarizzazione delle cellule nervose e muscolari e conseguente paralisi. I lattoni macrociclici sono dotati di elevata attività, a dosi estremamente ridotte, nei confronti dei nematodi intestinali e polmonari (adulti e larve) e di artropodi (gasterofili), tanto che per tali farmaci è stato coniato il termine di "endectocidi". Nessuna azione è svolta verso i vermi piatti (cestodi e trematodi). In Italia sono disponibili formulazioni a base di ivermectina e moxidectina. La prima in formulazione pasta (*Eqvalan, Boehringer Ing. Animal Health*), (*Avalon, Acme*) (*Avatar, Acme*), (*Eraquell, Virbac*), (*F.Mectin 7.49G, Norbrook-VAAS*), (*Maximec pasta, Virbac*), o in gel (*Neomectin, Esteve*); la seconda in gel orale (*Equest gel, Fort Dodge*). Per ampliare lo spettro d'azione anche alle tenie, sono disponibili associazioni farmacologiche di lattoni macrociclici e praziquantel, sia con ivermectina (*Eqvalan Duo, Boehringer Ing. Animal Health*), (*Equimax, Virbac*) (*Noromectin Praziquantel Duo, Norbrook-VAAS*) che con moxidectina (*Equest pramox, Fort Dodge*).

PRATICHE DI TRATTAMENTO DELLE ELMINTOSI NELL'ASINO IN ITALIA

In Italia, il numero dei trattamenti antiparassitari nell'asino nel corso dell'anno varia da 1 a 4. Nella maggior parte degli asini vengono effettuati dagli 1 ai 2 trattamenti/anno. Una piccolissima percentuale effettua 4 trattamenti mentre il 12,3% degli asini non sono sottoposti ad alcun trattamento antiparassitario.

Così come avviene nei cavalli, i lattoni macrociclici, ed in particolar modo l'ivermectina, rappresentano, anche nell'asino, le molecole maggiormente utilizzate, seguite dai benzimidazolici e dal pyrantel; raro è l'utilizzo delle associazioni farmacologiche (ivermectina+praziquantel e/o moxidectina+praziquantel) e dei fitoterapici così come riportato nel grafico a fianco.



IVM: ivermectina; MOX: moxidectina; BNZ: benzimidazolici; PYR: pyrantel; LM+PZQ: lattoni macrociclici+praziquantel

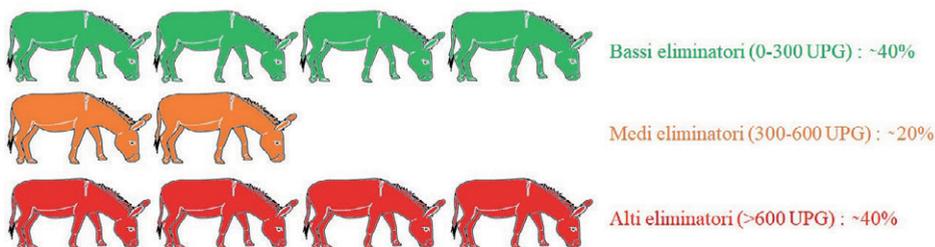
TIPOLOGIA DEI TRATTAMENTI ANTIPARASSITARI

Interval-dose program (trattamento soppressivo): sono sottoposti a trattamento antiparassitario tutti i soggetti presenti all'interno di un'azienda ad intervalli di tempo prestabiliti, in genere ogni 2 mesi. L'*interval-dose program* rappresenta un esempio di trattamento soppressivo che si è diffuso ampiamente a livello mondiale in quanto non prevede un controllo clinico dei soggetti ed una diagnosi parassitologica ed è oggi sconsigliato in quanto favorisce lo sviluppo di resistenza ai farmaci (antielmintico resistenza).

Strategic dosing (trattamento strategico): a differenza di quanto avviene per l'*interval-dose program*, lo *strategic dose* tiene in considerazione le differenze stagionali, identificando così dei periodi a maggiore rischio durante i quali si può contrarre la parassitosi. In questo regime i trattamenti antiparassitari vengono *in primis* effettuati a tutti i soggetti, durante la stagione del pascolo, per poi essere ripetuti ad intervalli di tempo cadenzati, molto spesso senza eseguire una diagnosi coprologica. Come risultato, il numero di trattamenti annui dovrebbe essere inferiore se paragonato all'*interval dose program*.

Selective therapy (trattamento selettivo): i trattamenti selettivi differiscono notevolmente dai trattamenti di tipo strategico in quanto abbandonano il principio di sottoporre a trattamento antiparassitario tutti i soggetti presenti all'interno dell'azienda e trattare solo quelli che ne hanno realmente necessità. Negli asini i trattamenti selettivi si basano sul principio di sottoporre a trattamento solo quei soggetti che dall'esame coprologico (*Faecal Egg Count - FEC*) presentano valore di uova per grammo di feci (UPG) > 300. Un trattamento di base, indipendentemente dalla FEC e nei soggetti al di sopra dell'anno di età, dovrebbe essere effettuato con un'associazione antiparassitaria ad ampio spettro (IVM+PZQ o MOX+PZQ), a tutti gli asini almeno una volta l'anno tra dicembre e febbraio. Questo trattamento permetterebbe di tenere sotto controllo, oltre agli strongili intestinali, (per MOX anche le larve incistate dei piccoli strongili) anche altri parassiti come ad esempio tenie e *Gasterophilus* spp., spesso associati a falsi negativi o non sempre diagnosticabili con gli esami coprologici. I trattamenti di tipo selettivo sono consigliati per gli animali adulti e non devono essere applicati ai puledri nel corso del primo anno di vita durante il quale, invece, dovrebbero essere sottoposti ad almeno 4 trattamenti antiparassitari (vedi sopra trattamento degli ascaridi).

Nel cavallo i trattamenti selettivi si basano sul principio che la FEC ha una differente distribuzione in un gruppo di cavalli, con una piccola percentuale di animali che elimina la maggior quantità di uova.



Nell'asino la regola 80:20 non è applicabile e può essere sostituita dalla regola dell'80:40 in quanto circa il 40% degli asini approssimativamente espelle l'80% delle uova di strongili intestinali.

È stato infatti dimostrato che circa il 20-30% dei cavalli adulti presenti in azienda si rende responsabile dell'eliminazione di circa il 70-80% delle uova e questa ipotesi è definita come "regola 80:20". In tal modo i cavalli adulti possono essere distinti in tre classi di eliminazione

(**bassi eliminatori, 0-200 UPG** che rappresentano circa il **50-70% della popolazione**; **medi eliminatori, 200-500 UPG** che rappresentano il **10-20% della popolazione** ed **alti eliminatori, >500 UPG** che rappresentano il **20-30% della popolazione**). Nell'asino le classi di eliminazione delle uova di strongili intestinali sono differenti e schematizzate nella figura.

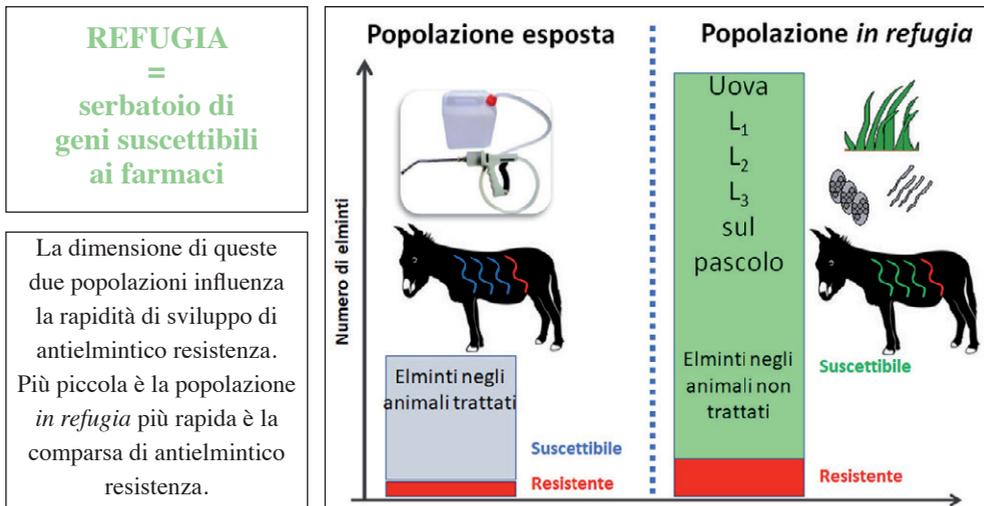
ANTIELMINTICO RESISTENZA E CONCETTO DI REFUGIA

La resistenza è la capacità da parte di un parassita di sopravvivere a un trattamento anti-parassitario che generalmente è efficace nei confronti della stessa specie ed allo stesso stadio d'infezione. Durante questo processo, i trattamenti antiparassitari saranno efficaci esclusivamente verso i parassiti sensibili al farmaco con un conseguente aumento di quelli geneticamente resistenti. Lo sviluppo della farmacoresistenza, quindi, richiede la presenza di geni antielmintico resistenti e si trasmette alle generazioni successive.

Negli asini, a differenza di quanto avviene nei cavalli, l'antielmintico resistenza è un fenomeno ancora poca diffuso; probabilmente grazie alla minore frequenza di trattamenti e quindi alla minore pressione a livello genetico determinata dal ridotto uso di farmaci antiparassitari in questa specie. Il primo report di sospetta resistenza al mondo della moxidectina, osservata come riduzione dell'*Egg Reappearance Period* – ERP (periodo che intercorre tra l'ultimo trattamento efficace e la ricomparsa delle uova nelle feci) verso i cyathostomi è stato riportato negli asini del *Donkey Sanctuary* nel Dorset, in Inghilterra. In Italia, recentemente, in alcune aziende asinine, il pyrantel ed il fenbendazolo si sono dimostrati inefficaci nel controllo degli strongili intestinali, mentre l'ivermectina e la moxidectina seppur efficaci hanno riportato un ridotto ERP (Buono et al., 2018).

Il termine *refugia* indica una subpopolazione di parassiti adulti, larve ed uova che non è esposta al farmaco durante un trattamento antiparassitario. Questa subpopolazione è costituita dalle uova e dagli stadi larvali (L_1 , L_2 e L_3) presenti sui pascoli, dalla popolazione parassitaria presente nei soggetti non trattati in seguito ad una $FEC < 300$ UPG (trattamento selettivo) e dalle larve in migrazione e/o incistate nella mucosa o sottomucosa a seguito di un trattamento antiparassitario effettuato con una molecola che non agisce verso le larve (pyrantel).

Nella figura sottostante si riporta una rappresentazione schematica del concetto di *refugia*.



Antelmintici per equini disponibili in Italia

CLASSE FARMACOLOGICA E PRINCIPIO ATTIVO	NOME COMMERCIALE (Casa farmaceutica)	VIA (di somministrazione)	DOSE (mg/kg peso vivo)	
TETRAIDROPIRIMIDINE				
Pyrantel pamoato	Antelmintico cavalli (Candioli)	orale	5,8 mg/Kg	
	Strongid (Pfizer Italia Srl Div.Vet.)	orale	6,6 mg/Kg	
	Strike granulato (Acme)	orale	6,94 mg/Kg	
	Strike pasta (Acme)	orale	13,2 mg/Kg	
BENZIMIDAZOLICI				
Fenbendazolo	Panacur 10% (MSD Animal Health)	orale	7,5 mg/Kg	
	Panacur pasta (MSD Animal Health)	orale	7,5 mg/Kg	
LATTONI MACROCICLICI				
Ivermectina	Avalon (Acme)	orale	0,2 mg/Kg	
	Avatar (Acme)	orale	0,2 mg/kg	
	Eqvalan (Boehringer Ing. Animal Health)	orale	0,2 mg/Kg	
	Eraquell (Virbac)	orale	0,2 mg/Kg	
	F. Mectin 7.49 G (Norbrook-VAAS)	orale	0,2 mg/Kg	
	Maximec pasta (Virbac)	orale	0,2 mg/Kg	
	Neomectin (Esteve)	orale	0,2 mg/Kg	
Moxidectina	Equest gel (Fort Dodge)	orale	0,4 mg/Kg	
ASSOCIAZIONI				
Ivermectina + Praziquantel	Eqvalan duo (Boehringer Ing. Animal Health)	orale	0,2 + 1 mg/Kg	
	Equimax (Virbac)	orale	0,2 + 1,5 mg/Kg	
	Noromectin Praziquantel Duo (Norbrook-VAAS)	orale	0,2 + 1,5 mg/Kg	
Moxidectina + Praziquantel	Equest pramox (Fort Dodge)	orale	0,4 + 2,5 mg/Kg	

LEGENDA Tempo di sospensione: NO LAT = vietato l'uso in animali in lattazione; Parassiti sensibili: Tenie: Anopl = *Anoplocephala* spp. Nematodi Intestinali (GS = Grandi Strongili; PS = Piccoli Strongili, Ox = *Oxyuris equi*, Ha = *Habronema* spp.). Dy = *Dictyocaulus arnfieldi*; S/des = *Strongyloides westeri*. Asc = *Parascaris equorum*. + = efficace; - = non efficace; +/- = efficacia incompleta; n.s. = non specificato; x2 = doppia dose.

Modificato da Informatore Farmaceutico di Veterinaria e Zootecnica (XX edizione 2010, Elsevier-Masson, Milano).

	TEMPO DI SOSPENSIONE (giorni)	PARASSITI SENSIBILI					
		Tenie	Nematodi Intestinali	Dy	S/des	Asc	Gasterofili
	No in animali DPA	+	GS, PS, Ox	+/-	n.s.	+	-
	Carne 10	Anopl (x2)	GS, PS, Ox	+/-	n.s.	+	-
	Carne 0	-	GS, PS	+/-	n.s.	n.s.	-
	Carne 0	Anopl	GS, PS	+/-	n.s.	+	-
	No in animali DPA	n.s.	GS, PS, Ox	+/-	+ (50 mg/Kg)	+	-
	Carne 20	n.s.	GS, PS, Ox	+/-	+ (50 mg/Kg)	+	-
	NO LAT	-	GS, PS, Ox, Ha	+	+	+	+
	Carne 34 Latte: no in animali DPA	-	GS, PS, Ox, Ha	+	+	+	+
	Carne 21	-	GS, PS, Ox, Ha	+	+	+	+
	Carne 30 NO LAT	-	GS, PS, Ox, Ha	+	+	+	+
	Carne 34	-	GS, PS, Ox, Ha	+	+	+	+
	Carne 34	-	GS, PS, Ox, Ha	+	+	+	+
	Carne 18 NO LAT	-	GS, PS, Ox, Ha	+	+	+	+
	Carne 32	-	GS, PS, Ox, Ha	+	+	+	+
	Carne 30 NO LAT	Anopl	GS, PS, Ox, Ha	+	+	+	+
	Carne 35 NO LAT	Anopl	GS, PS, Ox, Ha	+	+	+	+
	Carne 35 NO LAT	Anopl	GS, PS, Ox, Ha	+	+	+	+
	Carne 64 NO LAT	Anopl	GS, PS, Ox, Ha	+	+	+	+

BIBLIOGRAFIA

- Battelli G., Galuppi R., Pietrobelli M., Tampieri M.P. (1995). *Eimeria leuckarti* (Flesh, 1883) Reichenow, 1940 from *Equus caballus* in Italy. *Parassitologia*, 37: 215-217.
- Buono F., Pacifico L., Roncoroni C., Neola B., Mariani U., Santoro M., Fagiolo A., Veneziano V. (2016). Equine coccidiosis by *Eimeria leuckarti* in Italian donkey farms. In: Proc. 22nd International Congress Società Italiana Veterinari per Equini, Milano, 14-15 Oct 2016. pp. 318-319.
- Buono, F. (2018). Le principali elmintosi dell'asino in Italia: epidemiologia, gestione e controllo. PhD Thesis – Department of Veterinary Medicine and Animal Productions – University of Naples Federico II. http://www.fedoa.unina.it/12186/1/buono_francesco_30.pdf
- Buono F., Roncoroni C., Pacifico L., Piantedosi D., Neola B., Barile V.L., Fagiolo A., Várady M., Veneziano V. (2018). Cyathostominae Egg Reappearance Period After Treatment With Major Horse Anthelmintics in Donkeys. *Journal of Equine Veterinary Science*, 65: 6-11.
- Dubey J.P. e Bauer C. (2018). A review of *Eimeria* infections in horses and other equids. *Veterinary Parasitology*, 256: 58-70.
- ESCCAP (2019) Linee guida per il trattamento ed il controllo delle infezioni parassitarie gastrointestinali degli equidi. <http://www.esccap.it/uploads/documenti/7461418.pdf>
- Giannetto S., Poglayen G., Brianti E. (2008). I parassiti dell'asina dall'immagine all'azione. In: L'asino all'attenzione della comunità scientifica e del territorio. A cura di Conte F., Chiriotti Ed. pp 32-36.
- Lichtenfels J.R., Kharchenko V.A., Dvojnjos G.M. (2008). Illustrated identification keys to strongylid parasites (strongylidae: Nematoda) of horses, zebras and asses (Equidae). *Veterinary Parasitology* 156: 4-161.
- Lightbody K.L., Matthews J.B., Kemp-Symonds J.G., Lambert P.A., Austin C.J. (2018). Use of a saliva-based diagnostic test to identify tapeworm infection in horses in the UK. *Equine Vet J.* 50(2): 213-19.
- Lizzaraga I., Sumano, H., Brumbaugh G.W. (2004). Pharmacological and pharmacokinetic differences between donkeys and horses. *Equine Veterinary Education*, 16 (2): 102-112.
- Malan F.S, de Vos V., Reinecke R.K., Pletcher J.M. Studies on *Strongylus asini*. I. Experimental infestation of equines. (1982). Onderstepoort Journal Veterinary Research, 151-153.
- Matthews J.B., Burden, F.A. (2013). Common helminth infections of donkeys and their control in temperate regions. *Equine Veterinary Education*
- Napoli E., Brianti E., Gaglio G., Risitano A.L., Brucato G., Giannetto S. (2010) Evaluation of anthelmintic efficacy of pyrantel pamoate and eprinomectin in donkey. *Parassitologia* 52: 225.
- Taylor M.A., Coop R.L., Wall R.L. (2010). *Parassitologia e Malattie Parassitarie degli Animali*. Prima Edizione Italiana, a cura di Garippa G., Manfredi M.T., Otranto D. EMSI.
- Thienpont D., Rochette F., Vanparijs O.F.J. (1995) Diagnostic de verminose par examen coprologique. Janssen Research Foundation.
- Trawford A. and Getachew M. (2008) Parasites In Svendsen, E.D., Duncan J. and Hadrill D. (2008) *The Professional Handbook of the Donkey*, 4th edition, Whittet Books, Chapter 6.
- Trentini A., Stancampiano L., Usai F., Micagni G., Poglayen G. (2010). Donkey endoparasites in an organic farm. *Parassitologia*, 52: 336.
- Veneziano V., Di Loria A., Masucci R., Di Palo R., Brianti E., Gokbulut C. (2011) Efficacy of eprinomectin pour-on against *Dictyoacaulus arnfieldi* infection in donkeys (*Equus asinus*). *The Veterinary Journal*, 191: 414-415.

FARMACI IN USO NELLA SPECIE ASININA

ERNESTO PALMA¹, JESSICA MAIUOLO², FLORIANO FARAGÒ³, DOMENICO BRITTI⁴

¹ *Institute of Research for Food Safety & Health, Nutramed S.c.a.r.l., Department of Health Sciences, University “Magna Græcia” of Catanzaro*

² *Institute of Research for Food Safety & Health, Nutramed S.c.a.r.l.*

³ *Ministero della Salute*

⁴ *Department of Health Sciences, University “Magna Græcia” of Catanzaro*

INTRODUZIONE

L'asino risulta essere un animale molto forte e resistente che riesce a sopravvivere anche in condizioni ambientali difficili; l'esemplare domestico, infatti, deriva dall'Asino selvatico africano ed è abituato a sopravvivere in luoghi semi-aridi, con scarse fonti alimentari, accesso intermittente all'acqua e grandi escursioni termiche (Zhu et al., 2018). L'asino è noto da sempre come animale da lavoro, ma negli ultimi anni è incrementata la richiesta di prodotti che ne derivano direttamente: il latte e la carne (quest'ultima importante nei paesi più poveri). Inoltre, al giorno d'oggi, l'asino è utilizzato anche nella pet therapy, il trekking somegiato e nella terapia assistita per bambini con disabilità (Karatosidi et al., 2013; Cunsolo et al., 2017). In virtù di questi utilizzi è aumentata esponenzialmente l'attenzione alle principali problematiche sanitarie di questo animale. A dispetto della sua resistenza, infatti, l'asino non è immune alle principali patologie che colpiscono tutti gli altri equidi. I motivi scatenanti le patologie nell'asino possono essere legati all'invecchiamento, alla mancanza di riposo, ad un'alimentazione inappropriata, a carichi di lavoro troppo pesanti, alla mancanza di acqua ed al clima caldo. Tutti questi fattori possono apportare situazioni patologiche responsabili di un alterato benessere dell'animale (Evans et al., 2018).

Dal momento che l'asino spesso non presenta evidenti segni clinici di patologie, nonostante possa soffrire di gravi e potenzialmente letali condizioni, sarebbe importante assicurare un'adeguata assistenza di routine per mantenere una buona salute e consentire una rapida individuazione delle malattie (Burden et al., 2016). Inoltre, la profilassi dovrebbe iniziare in giovane età per ridurre il rischio di sviluppare determinati condizioni patologiche.

LE PARASSITOSI

Le endoparassitosi sono le più comuni patologie che colpiscono l'asino ed incidono negativamente sul suo benessere e produttività, come confermato da molti lavori scientifici (Saadi et al., 2018).

Per lungo periodo non sono esistiti farmaci antiparassitari registrati per la tutela della specie asinina dal momento che le principali conoscenze di parassitologia sono state messe a disposizione del cavallo e dei ruminanti. Questo accadeva in quanto l'asino era considerato appartenere ad una specie “inferiore” rispetto al cavallo; proprio per questo motivo molto poco si conosceva sulle proprietà farmaco-cinetiche, sul dosaggio e l'efficacia di alcuni farmaci; ad esempio, infatti, le dosi utilizzate erano sovrapponibili a quelle usate per i cavalli. Oggi è noto, che l'asino possiede capacità di metabolizzare i farmaci più elevate rispetto al cavallo

e questa caratteristica comporta, di conseguenza, l'esigenza di utilizzare dosaggi superiori ed intervalli dei tempi di somministrazione inferiori (Veneziano, 2011).

L'asino risulta ospite di numerosi endoparassiti tra cui i nematodi ed i cestodi. I nematodi sono vermi cilindrici non segmentati che costituiscono uno dei gruppi più abbondanti di organismi metazoi. Possono essere classificati in nematodi vivi (i quali vivono in fondali acquatici, in terreni umidi e nelle sorgenti termali) e nematodi parassiti i quali infestano un grande numero di animali e piante (Grosenbaugh et al., 2011). Dal punto di vista strutturale appaiono con un corpo tozzo e sono ben visibili sulla mucosa intestinale. I parassiti adulti vivono nel colon e nel cieco e possono causare nell'ospite diarrea, febbre, anemia, perdita di peso (Tellse et al., 2013; Kumar et al., 2009) e, in casi estremi, anche a morte dell'animale ospite. La morte è più comune nei cavalli e molto meno frequente nell'asino (Matthews and Burden, 2013).

I cestodi sono vermi parassiti nastriformi segmentati che vivono, da adulti, nell'intestino dei vertebrati; allo stato larvale, invece, possono vivere anche in individui invertebrati; infatti il loro ciclo vitale comporta il passaggio in uno o più ospiti in cui la larva si trasforma in stadi più evoluti (Bennett et al., 2019). Per fare una diagnosi corretta di parassitosi nell'asino è indispensabile effettuare l'esame copro-microscopico mediante *Faecal Egg Count* (FEC) cioè la conta del numero di uova per grammo di feci. I farmaci usati contro le parassitosi sono gli antielmintici, capaci di uccidere gli endoparassiti senza causare danni significativi all'ospite (Martin et al., 1997). La FEC è il metodo ufficiale per valutare l'efficacia degli antielmintici negli equidi (Nielsen et al., 2015).

Gli attuali farmaci antielmintici sono divisi in classi specifiche in base alla struttura chimica. Le classi farmacologiche utilizzate per combattere le principali parassitosi negli equidi sono: i Benzimidazoli (BZDs) ed i pro-Benzimidazoli (pro-BZDs), Le Tetraidropirimidine (THPs), gli Imidazotiazoli (IMTs) and i Lattoni macrociclici (MLs).

BENZIMADOLI (BZDS)

BDZs sono stati i primi farmaci anti-elmintici ad essere utilizzati in medicina veterinaria fin dagli anni '60 (Drudge et al., 1981). La molecola "Benzimidazolo", capostipite della famiglia dei BDZs, è un composto organico eterociclico aromatico, composto dalla condensazione di un anello benzenico ed un imidazolo. I pro-BDZs sono dei pro-farmaci non attivi; Quando penetrano nel corpo del parassita vengono trasformati in composti BDZ attivi, a livello della microflora gastrointestinale e del fegato, (Stasiuk et al., 2019). I BSZs ed i pro-BSZs presentano la medesima struttura di base con l'aggiunta di sostituenti chimici in svariate posizioni (Lanusse et al., 1993; Lifschitz et al., 2017).

Dalla struttura chimica dei BZDs si evince che questi composti possiedono una scarsa solubilità che limita le somministrazioni parenterali, mentre i pro-BZDs risultano maggiormente solubili. I principali metodi di somministrazione sono per via orale, topica e gastrica; le formulazioni dei farmaci sono molteplici: gel, pomate, polveri o granuli da aggiungere ai mangimi. Il metabolismo di questi farmaci avviene principalmente nel fegato, ma anche nel rene, nei polmoni ed a livello gastrointestinale (Prechal et al., 2016). Le molecole, una volta metabolizzate, possiedono una diversa, ridotta o assente attività farmacologica, come evidenziato da numerosi studi presenti in letteratura (Bistrović et al., 2018).

Il meccanismo d'azione di questa classe di farmaci è di prevenire la polimerizzazione dei microtubuli legandosi selettivamente alla proteina β -tubulina; in particolare questi farmaci si legano reversibilmente alla tubulina delle cellule eucariotiche degli animali e irreversibilmente alla tubulina dei parassiti, determinandone la morte (Demeler et al., 2013). La diversa efficacia degli antielmintici BZDs attivi dipende unicamente dalla diversa farmacocinetica all'interno dell'ospite oltre che dal differente grado di solubilità che rende il farmaco disponi-

bile contro il parassita per un minor o maggior tempo (Bing et al., 2018). Da quanto esposto, appare chiaro quanto sia importante il dosaggio utilizzato nelle diverse specie.

BZDs e pro-BZDs sono farmaci ben tollerati nei mammiferi; da questo punto di vista i composti maggiormente solubili vengono assorbiti con maggiore efficacia e risultano più tossici rispetto ai composti meno solubili. L'unico effetto tossico noto è la teratogenicità con un grado diverso nelle diverse specie animali (Tsibouskis et al., 2013). Inoltre, studi condotti recentemente *in vitro* hanno evidenziato che BZDs e pro-BZDs possono indurre morte apoptotica e necrotica mediante un blocco del ciclo cellulare. Più in particolare si potrebbe verificare un blocco nella fase S, con una marcata inibizione delle cellule nelle fasi G0 e G1 a causa dell'inibizione della sintesi di DNA che costringe le cellule all'arresto in fase S (Blaszczak-Swiatkiewicz et al., 2016). Negli ultimi decenni è stata osservata una sempre maggiore resistenza degli endoparassiti al trattamento con BZDs. I motivi sono da ricercare prevalentemente nell'utilizzo veterinario frequente con lo stesso gruppo di molecole antielmintiche, nel sottodosaggio utilizzato e nel trattamento di massa (Shalaby, 2013). Inoltre, il riscaldamento globale è stato anche associato allo sviluppo di resistenza in alcuni nematodi (Kaplan and Vidyashankar, 2012).

L'inibizione metabolica, mediante l'utilizzo di inibitori appropriati, è risultata maggiormente efficace rispetto al semplice aumento delle dosi. In questa direzione l'attività di BZDs e proBZDs è stata incrementata mediante la somministrazione di inibitori metabolici insieme agli stessi farmaci. L'utilizzo di inibitori metabolici (come il metimazolo) agisce sull'inibizione del citocromo P450, con la successiva inibizione metabolica del farmaco che consente all'antelmintico di essere disponibile per un tempo maggiore (Virkel et al., 2009).

IMIDAZOTIAZOLI E TETRAIDROPURIMIDINE

Gli antielmintici Imidazotiazoli sono stati scoperti nei primi anni '60 e dagli anni '90 sono stati ampiamente utilizzati per il trattamento di infezioni da elminti negli animali (Amery and Bruynseels, 1992). In particolare, il Tetramisolo è il composto più attivo. Inizialmente questo farmaco veniva usato in una miscela racemica al 50% di L e D Tetramisolo (Raeymaekers et al., 1967). Successivamente è stato dimostrato che l'isomero L è più potente e, di conseguenza, il D-isomero è stato rimosso dalla miscela (Gupta, 2016). Recenti studi hanno dimostrato una buona efficacia di questo farmaco anche in altre malattie degli equidi tra cui il cancro, l'artrite reumatoide, alcune infezioni virali e condizioni infiammatorie (Das et al., 2014).

Le Tetraidropurimidine sono dei composti derivati dagli Imidazotiazoli; tra questi i farmaci maggiormente utilizzati sono il pyrantel (PYR), morantel e oxantel usati per controllare il tratto gastrointestinale colpito da parassiti negli animali domestici. Tra tutti, solamente PYR è ampiamente utilizzato negli equidi nelle formulazioni di pasta orale o tavolette. Negli ultimi tempi l'utilizzo di PYR è aumentato nel mondo in seguito alla resistenza antielmintica contro i farmaci benzimidazolici (Sheehan et al., 2016). PYR è insolubile in acqua e per questo motivo il 50-70% di una dose ingerita viene escreto nelle feci. Paradossalmente a causa di un ridotto assorbimento sistemico, la disponibilità di PYR aumenta nel lume dell'intestino (Cowan et al., 2017). PYR è disponibile in diverse formulazioni: ma negli equidi sono preferite le somministrazioni orali o nasogastriche (Gokbulut et al., 2014). Le Tetraidropurimidine e gli Imidazotiazoli hanno un meccanismo d'azione simile. Agiscono selettivamente come agonisti dei recettori nicotinici sinaptici ed extrasinaptici delle cellule muscolari degli endoparassiti. In questo modo inducono contrazioni e paralisi spastica nei parassiti, i quali vengono eliminati dall'ospite (Martin and Robertson, 2007). È stato dimostrato, infatti, che sia l'acetilcolina che PYR agiscono legandosi ai medesimi recettori nicotinici (Martin and Robertson, 2007). Questa classe di farmaci presenta tossicità solo se adoperata in elevate concentrazioni

che risultano al di sopra delle dosi consigliate. Non sono stati evidenziati fenomeni di teratogenicità nella maggior parte dei mammiferi e negli equidi la capacità riproduttiva non è stata influenzata (Kaminsky et al., 2008). Per quanto riguarda la farmacocinetica di questi farmaci, è importante sottolineare che la maggior parte dei sali di questi composti sono quasi completamente insolubili in acqua. Di conseguenza è minore l'assorbimento nel tratto gastrointestinale; la conseguenza diretta è che i farmaci passano quasi completamente nelle feci ed un ridotto assorbimento sistemico aumenta la biodisponibilità nel lume intestinale cioè proprio nella zona in cui gli endoparassiti sono maggiormente concentrati (Gokbulut et al., 2014). La farmacocinetica varia anche in relazione al tipo di formulazione utilizzata. Ad esempio, è stato dimostrato nell'asino che le concentrazioni plasmatiche di sali di queste classi farmacologiche (formulate in granuli) erano maggiori di quelle relative formulate in pasta molle, mantenendo la medesima concentrazione e dopo somministrazione orale. È probabile che la dissoluzione più scarsa della formulazione della pasta sia responsabile della riduzione del suo assorbimento rispetto alla formulazione granulare (Gokbulut et al., 2014).

LATTONI MACROCICLICI

I Lattoni Macro ciclici (ML) comprendono una serie di molecole naturali e semisintetiche, tra cui le principali sono ivermectina (IVM), abamectina (ABM), moxidectina (MXD), doramectina (DRM), eprinomectina (EPM), selamectina (SLM) e milbemicina. Questi composti hanno proprietà chimiche e meccanismi d'azione comuni. La particolarità di questi farmaci è che possono agire sia contro alcuni endoparassiti che contro ectoparassiti; proprio per questo motivo questi farmaci sono identificati come “*endoctocidi*” (Pasay et al., 2019; Alout and Foy, 2017). La somministrazione di ML avviene sostanzialmente per via orale come paste o formulazioni in gel (Saumell et al., 2017). Inizialmente sono stati usati come acaricidi ed insetticidi prevalentemente per la salvaguardia delle colture agricole; solo successivamente il loro uso è stato ampliato per il trattamento delle infezioni endo ed ecto-parassitarie nella medicina veterinaria (Toscan et al., 2012). I Lattoni Macro ciclici vengono utilizzati abbondantemente negli equidi per il trattamento contro parassiti gastrointestinali ed infezioni ectoparassitarie (Lyons and Tolliver, 2012). Dal punto di vista chimico-fisico i Lattoni Macro ciclici sono altamente lipofili e si sciolgono facilmente nei principali solventi organici come il clorofornio, l'acetone, il toluene ed il cloruro di metilene. Questa caratteristica ha consentito di produrre diversi tipi di formulazioni: il gel orale è la formulazione maggiormente disponibile e commercializzata per il trattamento antiparassitario negli equidi (Ahmadpour et al., 2019). Il meccanismo d'azione di questa classe di farmaci è quello di agire come agonisti del recettore transmembrana dell'acido γ -aminobutirrico di tipo A (GABA).

Il GABA è il principale neurotrasmettitore inibitorio nel cervello ed il suo legame postsinaptico ai recettori serve a modulare la reazione eccitatoria neuronale. In questo modo i Lattoni Macro ciclici si legano ai recettori GABA dei parassiti con la conseguenza di bloccare la trasmissione dei loro segnali neuronali, conducendo a paralisi, morte ed espulsione dal corpo dell'ospite (Buckingham et al., 2017). L'azione di questa classe di farmaci non agisce sull'ospite in quanto i recettori GABA sono presenti solo nel sistema nervoso centrale ed il legame di ML è impedito dalla barriera emato-encefalica (Merola and Eubic, 2018). L'assunzione di Lattoni Macro ciclici non ha evidenziato lo sviluppo di effetti collaterali se non in seguito a sovradosaggi; solamente in questo caso, infatti, questi farmaci sono in grado di attraversare la BBB, di legarsi ai recettori GABA ed ai canali al cloro, con successiva riduzione dell'attivazione dei neuroni eccitatori, conducendo a evidenti segni clinici (Bloomquist, 2003). In questi casi l'intossicazione è correlata al sistema nervoso centrale. Tra i principali sintomi si ha depressione neurologica, atassia, midriasi, cecità, tremori e ipersalivazione. Purtroppo, in

casi estremi l'animale può presentare convulsioni ed entrare in coma (Meekins et al., 2015). Si ritiene che la riuscita di ML nel trattamento delle infezioni, con pochi o nessun effetto collaterale, sia dovuto all'estrusione attiva di questa classe di farmaci dal sistema nervoso centrale (SNC) da parte della P-glicoproteina (P-gp) della barriera ematoencefalica (Kiki-Mvouaka et al. 2010). La P-gp è una proteina di efflusso transmembrana che influenza la farmacocinetica di molti dei suoi substrati ed è particolarmente espressa in tutti i mammiferi, compresi gli equidi (Merola and Eubic, 2018).

Proprio per questo motivo i Lattoni Macro ciclici sono risultati farmaci molto tossici e letali solamente in quei soggetti portatori di mutazioni nella glicoproteina P, come chiaramente dimostrato in moltissimi mammiferi (Mealey, 2008).

LA GESTIONE DEL DOLORE NELL'ASINO: FARMACI IN USO

Tra i principali disturbi che colpiscono l'asino si hanno le malattie dentali ed i problemi deambulatori legati allo zoccolo. L'asino, essendo un animale "stoico", soffre di questi disturbi dentali che sembrano apparentemente asintomatici (Thiemann et al., 2018). In caso di mancanza di opportune visite cliniche, i disordini dentali si possono riconoscere in quanto sono presenti segni clinici tipici: alimentazione lenta, scuotimento della testa, cambiamenti visibili nella forma e simmetria della testa, alitosi, comportamento anormale, sporgenza della lingua, sbavamento, salivazione eccessiva, suoni anomali durante la masticazione, sangue in bocca, dal naso e perdita di peso (Du Toit and Dixon, 2012). Le patologie dentali si verificano sia in asini di giovane età che in quelli più anziani, anche se nella vecchiaia sono più frequenti: in particolare uno studio ha rivelato una prevalenza di disturbi ai denti incisivi nel 74% degli asini, che vanno da 56,8% nei giovani animali al 90,3% nei più anziani (Du Toit et al., 2009; Du Toit et al., 2008). L'aumento dei disordini dentali con il progredire dell'età dimostra l'importanza di effettuare visite odontoiatriche di routine nell'asino per prevenire disturbi futuri. La diagnosi precoce ed il trattamento delle anomalie dentali possono, infatti, evitare lo sviluppo di condizioni più gravi. In asini vecchi, di oltre 15 anni di età, si ha lo sviluppo di parodontite in cui vengono colpite le strutture di supporto al dente, cioè la gengiva e l'osso, fino ad arrivare alla perdita dell'elemento dentario (Rodrigues et al., 2013). In asini con più di 20 anni d'età si osservano maggiori danni dentali dovuti all'usura con successivi spostamenti dei denti e delle guance. In caso di malattie a livello dentale, la tipica conseguenza è l'incapacità di masticare foraggi a fibre lunghe che, con il passare del tempo, conduce a perdita di peso e conseguente letargia dell'animale. In questi casi, è indispensabile sostituire i foraggi a fibra lunga con fonti a fibre alternate, le quali possono essere facilmente masticate e digerite (Mendoza et al., 2015). Da quanto esposto appare chiaro che le patologie dentali dell'asino andrebbero evitate mediante visite odontoiatriche e diagnosi precoce. L'unico trattamento previsto, quando strettamente necessario, è l'estrazione del dente ormai inutilizzabile. In questo caso è obbligatorio, da parte del veterinario, effettuare una sedazione ed anestesia locale (Burden et al., 2013).

Un'altra tipica malattia degli equidi, molto rappresentata nell'asino, è il problema delle zampe. Alcuni studi recenti hanno dimostrato che la malattia dello zoccolo e la zoppia sono molto diffuse nell'asino e sono responsabili dello scarso benessere dell'animale (Morrow et al., 2011). Uno studio condotto su 1.444 asini nel Regno Unito ha messo in evidenza come il 44,8% dei campioni esaminati presentava disturbi nel piede e zoppia (Francesca et al., 2018) e che le cause principali erano rappresentate da ascessi (10,7%), cheratoma (2,8%), laminite acuta (2,7%) e laminite cronica (2,8%). I problemi legati allo zoccolo sono associati al clima, al lavoro ed all'umidità del terreno (Burn et al., 2014).

I disturbi dentali e le patologie dello zoccolo nell'asino hanno in comune, la percezione del dolore acuto. Il dolore può essere difficile da valutare obiettivamente negli animali, specialmente in quelli che nascondono i loro sintomi (van Dierendonck et al., 2020). Tra le altre cose gli asini sono animali noti per nascondere il proprio stato di dolore maggiormente rispetto ai cavalli. Proprio per questo motivo si è resa necessaria la scoperta di una misurazione oggettiva del dolore degli asini allo scopo di intervenire tempestivamente e migliorare il benessere di questo animale stoico (Pritchard et al., 2005). Negli ultimi anni sono state sviluppate delle scale per misurare il dolore effettivo negli asini; una di queste si basa sulla misura dell'alterazione dell'espressione facciale (EQUUS-DONKEY-FAP) (Van Loon and van Dierendonck, 2015). Questa scala prende in esame alcune caratteristiche facciali degli asini in condizione di dolore acuto: orecchie rivolte all'indietro, palpebre più aperte con sclera visibile, narici aperte, angoli della bocca sollevati, serraggio orbitale degli occhi (Van Loon and van Dierendonck, 2017). Una seconda scala (EQUUS-DONKEY-COMPASS) si basa sull'osservazione, per la durata di cinque minuti, di venti parametri fisiologici, comportamentali e risposte a stimoli specifici (Van Loon and van Dierendonck, 2015). I parametri considerati riguardano la valutazione dell'aspetto generale (più o meno depresso), della postura, della distribuzione del peso, dei movimenti del capo, dei movimenti della coda (esclusi quelli dovuti alla presenza di insetti), dei calci all'addome, della posizione delle zampe e del grado di sudorazione. Per ogni situazione constatata viene attribuito un punteggio che va da zero (se non vi sono alterazioni) a tre (se il parametro considerato è alterato al massimo) (Van Loon and van Dierendonck, 2015). Sono stati condotti studi basati sull'utilizzo di queste due scale ed entrambe hanno mostrato un'alta affidabilità (van Dierendonck et al., 2020). Nonostante ci siano, come già detto, numerose differenze tra gli asini ed i cavalli le conoscenze provenienti da studi equini possono essere utilizzate per sviluppare strategie ottimali negli asini e nei muli. Per quanto riguarda il trattamento anestetico pre-operatorio nell'asino sono state utilizzate numerose combinazioni di farmaci allo scopo di indurre un effetto a breve termine. Miscela iniettabile di ketamina (2.2-2.5 mg/Kg) e xilazina (1,0 mg/Kg) sono state somministrate ad intermittenza. Poiché gli asini metabolizzano la Ketamina più rapidamente rispetto ai cavalli, si è dimostrata necessaria una somministrazione ogni dieci minuti, anziché ogni 15-20 minuti che è il tempo tra una somministrazione ed un'altra nei cavalli (Matthews et al., 2005). In queste condizioni la durata dell'anestesia è stata breve ($15,3 \pm 1.6$ minuti) e per questo motivo sono state considerate altre combinazioni (Taylor et al., 2008). Altri farmaci usati con successo nell'asino come anestetici sono stati Thiopental (6-8 mg/Kg) e Propofol (2.0 mg/Kg) (Emami et al., 2006). Uno studio recente ha confrontato questi due farmaci ed è risultato che il tempo per il raggiungimento dell'effetto è stato più veloce con l'uso di Thiopental, ma il recupero dopo somministrazione è risultato migliore con Propofol (Abass et al., 2007). Nel caso di procedure operatorie più lunghe (>60 min) o per asini più anziani sono raccomandati anestetici forniti per via inalatoria. A tali scopi sono consigliati l'Alotano, l'isoflurano, o il sevoflurano (Seddighi and Doherty, 2012)

FARMACI ANTIINFIAMMATORI NON STEROIDEI NELL'ASINO

I farmaci antinfiammatori non steroidei (FANS) sono ampiamente utilizzati nella medicina umana e veterinaria per la loro riconosciuta efficacia nella produzione di effetti antinfiammatori, analgesici e antipiretici. Gli effetti farmacologici dei FANS sono specifici e limitati: pertanto è essenziale comprendere esattamente i meccanismi pato-fisiologici dell'infiammazione e prestare attenzione alle specie animali trattate (Belloli and Zizzadoro, 2010). Negli asini i FANS sono indicati per il trattamento dei tessuti molli, dell'infiammazione muscolo-scheletrica e di entrambi i tipi di dolore: cronico ed acuto. Anche in questo caso, gli asini me-

tabolizzano questi farmaci più velocemente dei cavalli e, pertanto, sono richiesti dosaggi più alti o intervalli di somministrazione ridotti (Grosenbaugh et al., 2011).

I FANS usati per trattare i principali tipi di dolore negli equidi sono classificati in base alla struttura chimica, al meccanismo d'azione ed all'effetto farmacologico (analgesico, antinfiammatorio, antipiretico). Tutti i FANS condividono un meccanismo d'azione comune che consiste nell'inibire gli enzimi COX, con conseguente riduzione dei prostanoidei. Il parametro che varia tra i FANS è la selettività per i diversi enzimi COX. I principali FANS noti sono: fenilbutazone (PBZ), Flunixin meglumina (FLU), Ketoprofene (KTP), Meloxicam, Cimicoxib e Firocoxib (Coxibs) (Knych, 2016). Il fenilbutazone è un farmaco con forti proprietà analgesiche e antinfiammatorie e rimane il FANS più comunemente prescritto. L'assorbimento di PBZ sembra essere alto indipendentemente dalla formulazione; sono disponibili compresse, pasta e polvere ma, nonostante ciò, PBZ viene usato solo come farmaco topico negli asini. I tempi medi di permanenza e smaltimento di questo farmaco sono più brevi negli asini rispetto ai cavalli (Matthews et al., 2001). Inoltre, tra gli asini stessi, ci sono differenze in termini di smaltimento a seconda della loro dimensione: gli asini in miniatura, ad esempio, eliminano il fenilbutazone più velocemente di quelli di medie dimensioni (Mealey et al., 1997). In questo caso specifico, gli asini in miniatura necessitano di intervalli di dosaggio più brevi, poiché dosi più elevate possono causare problemi ai reni ed al tratto gastrointestinale (Mozaffari et al., 2010). È stato dimostrato che la somministrazione di PBZ con alimenti ritarda il tasso di assorbimento (Knych, 2016). La flunixin meglumina è un analgesico relativamente potente, non narcotico, non steroideo, con proprietà antinfiammatorie e antipiretiche. Questo composto sembra avere meno effetti collaterali del fenilbutazone a dosi elevate (Mozaffari et al., 2010). Meloxicam, cimicoxib e firocoxib sono inibitori selettivi della cicloossigenasi-2 che sono stati valutati negli asini anche se non sono commercializzati per questa specie (Kim et al., 2014). Questi farmaci hanno tempi di smaltimento più brevi negli asini rispetto ai cavalli, il che suggerisce che sono necessari intervalli di dosaggio frequenti negli asini per ottenere un'adeguata analgesia (Matthews, et al., 2009). I principali effetti avversi dei farmaci antinfiammatori non steroidei si riscontrano nel sistema gastrointestinale dopo sovradosaggio, alte dosi o somministrazione cronica.

ANTIFUNGINI

Le cheratomicosi rappresentano l'infezione fungina più comune presente negli equini anche se possono essere presenti altre infezioni micotiche che possono interessare altri tessuti oculari. In questi casi è necessario che il trattamento sia tempestivo ed appropriato per ridurre al minimo la morbilità e la probabilità di perdita della vista.

Anche se le opzioni terapeutiche nel trattamento delle infezioni fungine sono più limitate rispetto alla disponibilità che si ha di antimicrobici usati per trattare le infezioni batteriche equine, è necessario una conoscenza approfondita dei farmaci antifungini usati nell'oftalmologia equina.

Cheratomicosi

La cheratomicosi è una patologia oculare comune tra gli equini e rappresenta la più importante infezione oculare diagnosticata con un'alta frequenza.

È stato evidenziato che l'alta suscettibilità della cornea ai miceti dipende da una serie di fattori di rischio come per esempio quelli ambientali, da traumi corneali esterni o ancora da trattamenti precedenti con corticosteroidi.

Il piano terapeutico è necessario che sia adattato al singolo equino e può variare da caso a caso. Le infezioni fungine della cornea possono essere di tipo ulcerativo o non ulcerativo, possono interessare gli strati superficiali e profondi dei tessuti con la presenza di placche cor-

neali bianche, gialle, verdi o marroni e di lesioni satellitari corneali e ascessi stromali profondi (Brooks et al., 2013).

I miceti maggiormente responsabili del danno sono *Aspergillus* e *Fusarium* anche se sono stati isolati *Absidia*, *Acremonium*, *Alternaria*, *Epidermophyton*, *Microsporum*, *Penicillium* ecc e lieviti come *Candida*, *Cryptococcus*, *Histoplasma* e *Trichosporon*.

Questi invadono la cornea e dopo aver superato le barriere protettive penetrano all'interno dell'epitelio corneale e dello stroma dove si moltiplicano ed inducono una risposta infiammatoria con conseguente distruzione dei tessuti (Galera and Brook, 2012).

Blefariti

Le blefariti sono delle patologie oculari molto diffuse e si possono distinguere in diffuse, focali, acute o croniche.

Le palpebre equine sono fondamentalmente composte da pelle modificata e sono quindi potenzialmente sensibili a qualsiasi agente eziologico, la blefarite fungina può verificarsi con infezione cutanea che vede coinvolti numerosi miceti tra cui *Alternaria* spp, *Aspergillus* spp, *Bipolaris* spp, *Candida* spp, *Cryptococcus* spp, *Histoplasma* spp, *Microsporum* spp, *Penicillium* spp. (Valentine et al., 2006).

Il quadro clinico della blefarite fungina è caratterizzato dalla presenza di eritema, desquamazione, ipercheratosi, prurito e ulcerazioni delle palpebre, associato a granulomi e allo sviluppo di tratti drenanti cronici.

È stato evidenziato che queste infezioni micotiche sono spesso secondarie ad un trauma della cute con penetrazione di materiale per esempio di tipo vegetale o alla presenza di danni della cute o a processi patologici come le dermatosi (Ledbetter, 2017).

Congiuntiviti

Le congiuntiviti fungine negli equini includono la congiuntivite granulomatosa da *Scedosporium apiospermum* che rappresenta una forma subcongiuntivale di micetoma caratterizzato dalla presenza di masse solide solitarie o multiple presenti nei tessuti subcongiuntivali. Altre forme di congiuntiviti da miceti sono quelle da *Aspergillus*, *Blastomyces*, *Rhinosporidium* e *Sporothrix* (Berzina et al., 2011).

Infezioni micotiche intraoculari

Le infezioni intraoculari da miceti negli equini sono gli ascessi a livello dell'iride, le infezioni intra-lenticolare e le endoftalmi. Sovente gli ascessi nell'iride sono associati ad un quadro severo di uveite anteriore che si caratterizza nel presentare nella camera anteriore dell'occhio un accumulo di fibrina ed ifema. È stato inoltre documentato, negli ascessi dell'iride, la contemporanea presenza di ascessi stromali profondi a livello della cornea.

La presenza di microtraumi a livello corneale o la disseminazione ematica di miceti nei tessuti dell'uvea sono fattori di rischio che favoriscono le infezioni micotiche all'interno dell'occhio (Brooks et al., 2009).

Neurite ottica

La neurite ottica da miceti può svilupparsi in associazione gutturomicosi e meningiti da *Cryptococcus neoformans*. Il processo infiammatorio a livello del nervo ottico può interessare la sezione intraoculare del nervo stesso facilmente evidente all'oftalmoscopia oppure essere limitato nella sezione retrobulbare che non si evidenzia all'esame oftalmoscopico.

La midriasi è il primo segno del danno mentre si può arrivare alla cecità monolaterale o bilaterale. Sono presenti inoltre alterazioni della pupilla (anisocoria) che potrebbero accom-

pagnarsi a forme di meningite criptococciche a seguito di lesioni a livello del sistema nervoso centrale (Hart et al., 2008; Elad, 2018).

È stato documentato che la disseminazione ematica o linfatica di miceti da siti primari infettivi (infezioni gastrointestinali e polmonari) o l'invasione diretta attraverso la lamina cribiforme da un'infezione della regione nasale sono ritenuti essere responsabili delle criptococcosi del nervo ottico e delle lesioni sul sistema nervoso centrale (Elad, 2018).

Malattia dell'orbita

La malattia orbitale fungina è rara nel cavallo, ma possono verificarsi ascessi orbitali con infezione da *Scedosporium apiospermum* o *Cryptococcus neoformans*.

Tra i sintomi principali sono presenti esoftalmo, strabismo, resistenza alla retropulsione del globo oculare, gonfiore periorbitale e la cheratite da esposizione (Ledbetter, 2017).

La diagnosi delle lesioni oculari da miceti che si possono sviluppare negli equini dipende dalle diverse condizioni che si presentano sviluppano anche se i principali strumenti diagnostici che abbiamo a disposizione per rilevare un processo infettivo comprendono la citologia, l'istopatologia, la coltura, la PCR e la microscopia confocale *in vivo*.

I FARMACI ANTIFUNGINI

I farmaci antifungini utilizzati più frequentemente per le infezioni oculari equine comprendono gli azoli, i polieni, le pirimidine, le echinocandine, le allilammine, gli inibitori della sintesi della chitina, l'argento sulfadiazina e gli iodofori.

Azolici

Gli azolici sono gli antimicotici più comuni utilizzati nella patologia oftalmica degli equini. Per quando riguarda il meccanismo d'azione, i derivati azolici alterano la struttura e la funzione della membrana cellulare dei miceti sensibili a seguito dell'inibizione della sintesi dell'ergosterolo della membrana del micete: inibiscono infatti la trasformazione di lanosterolo in ergosterolo. Il blocco della sintesi dell'ergosterolo di membrana è correlato con l'inibizione dell'enzima lanosterolo 14- α -demetilasi, citocromo P450-dipendente. Queste alterazioni della membrana cellulare micotica possono determinare la morte del micete o l'inibizione della crescita e della replicazione del micete stesso (Peyton et al., 2015).

Gli azolici inoltre inibiscono anche gli enzimi del citocromo P450 dipendenti della catena respiratoria fungina. L'attività di inibizione enzimatica esercitata dai derivati triazolici è molto più selettiva di quella dei derivati imidazolici nei confronti dei microsomi dei miceti.

Sono agenti fungistatici e dal punto di vista strutturale si distinguono in derivati azolici a struttura imidazolica (contenenti due atomi di azoto nell'anello azolico) e derivati azolici a struttura triazolica (contenenti tre atomi di azoto nel nucleo azolico) (Colitz et al., 2007).

Tra gli imidazoli troviamo il *miconazolo*, il *ketoconazolo*, il *clotrimazolo*, l'*enilconazolo* e l'*econazolo*, mentre tra i triazolici abbiamo l'*itraconazolo*, *fluconazolo*, *voriconazolo* e il *posaconazolo* (Mathes et al., 2010).

Lo spettro d'azione degli azolici è ampio, comprende la maggior parte dei lieviti e dei miceti filamentosi.

Miconazolo, *itraconazolo*, *fluconazolo*, *enilconazolo* e *voriconazolo* sono oftalmici utilizzati topicamente e somministrati sotto forma di creme dermatologiche negli equini.

L'*itraconazolo* è frequentemente associato con il dimetilsolfossido per migliorarne la solubilità, è stato documentato che è efficace nel trattamento topico della cheratomicosi.

Il *voriconazolo* somministrato per via oftalmica penetra nell'epitelio corneale intatto e si distribuisce nell'umore acqueo dove raggiunge concentrazioni superiori alla concentrazione minima inibente (MIC) dove agisce sui patogeni fungini più comuni.

Il *miconazolo* può essere somministrato per via subcongiuntivale mentre il voriconazolo anche per via intracorneale (Ledbetter, 2017).

Molti azolici possono essere somministrati sia per via orale che via endovenosa, come per esempio il *fluconazolo* che può essere somministrato a lungo termine con concentrazioni rilevabili nell'umore acqueo.

Per quanto riguarda la somministrazione intravenosa o orale del *voriconazolo* è stato evidenziato come il farmaco si distribuisce a livello del film lacrimale precolare e dell'umore acqueo raggiungendo concentrazioni che superano quelle terapeutiche richieste per attività sulla maggior parte dei funghi patogeni (David et al., 2006).

La somministrazione di *itraconazolo* per via orale o endovenosa raggiunge concentrazioni ematiche che permettono di svolgere attività inibitoria nei confronti della maggior parte dei funghi patogeni, non si distribuisce a livello dell'umore acqueo (David, 2005).

Infine, per il *ketoconazolo* è stato evidenziato come negli equini, dopo gavage intragastrico, vi è un basso assorbimento gastrointestinale (Ledbetter et al., 2007).

Polienici

I polienici costituiscono un gruppo di oltre 100 antifungini differenti, tutti dotati di attività antimicotica, ma dei quali solo pochi hanno avuto impiego pratico. Il loro nome è legato alla comune struttura, che è appunto polienica, cioè contiene un numero variabile di doppi legami non saturi coniugati. Nella molecola dei polienici è presente un grande anello lattonico (di circa 30 atomi), al quale si deve l'attività antifungina e per il essi sono chiamati anche *macrolidi polienici*.

I più importanti farmaci del gruppo possono avere una struttura tetraenica come la *nistatina*, una struttura pentaenica come la *natamicina* o comunemente detta *pimaricina* o eptaenica come l'*amfotericina B* (Prasad et al., 2016).

Questi farmaci hanno in comune alcune caratteristiche: spettro, farmacocinetica, resistenze micotiche, meccanismo d'azione e tossicità. Si caratterizzano per un ampio spettro d'azione e sono attivi *in vitro* contro la maggior parte dei miceti patogeni, con un'azione che può essere sia fungistatica che fungicida. Non possiedono invece azione antibatterica, mentre presentano un certo grado di attività antiprotozoaria (Goodman and Gilman, 2019).

La loro attività antimicotica si estrinseca su lieviti, su funghi dimorfi ed infine su muffe, miceti filamentosi e zigomiceti, miceti che risultano essere associati alle infezioni micotiche nell'equino. Le indicazioni cliniche sono correlate a questo ampio spettro d'azione; tuttavia l'impiego della maggior parte dei polienici è limitato da problemi fisico-chimici, farmacologici e tossicologici (Bassetti, 2010).

Per quanto riguarda la farmacocinetica, sono tutti pochissimo solubili in acqua e scarsamente assorbiti a livello gastrointestinale, per cui la loro somministrazione in corso di micosi profonde deve essere necessariamente parenterale. Dobbiamo ricordare che l'unico farmaco della famiglia utilizzato finora per tale via è l'*amfotericina B*, la quale, dopo somministrazione endovenosa, produce livelli ematici elevati e molto persistenti, diffonde bene nei tessuti, ma supera scarsamente la barriera emato-liquorale e viene eliminata lentamente e solo per via renale, in forma attiva. L'eliminazione continua per varie settimane dopo il termine della terapia.

Il meccanismo d'azione dei polienici è legato al loro ancoraggio a gruppi sterolici della membrana cellulare: l'ergosterolo in genere funge da recettore specifico per il farmaco. Ne consegue che solamente le cellule che possiedono gruppi sterolici sono sensibili a questi far-

maci. Ciò spiega sia l'attività dei polienici nei confronti dei miceti, nei quali gli steroli sono costituenti essenziali della membrana cellulare, sia l'insensibilità dei batteri alla loro azione (dato che le cellule procariotiche non posseggono steroli nella membrana) (Houšť et al., 2020).

L'ancoraggio di questi farmaci a gruppi sterolici della membrana cellulare degli organismi sensibili determina distorsioni e formazione di pori e canali nella membrana stessa e di conseguenza un'alterazione della permeabilità di membrana con conseguente perdita, da parte della cellula, di componenti essenziali (ioni potassio, metaboliti essenziali, ecc.) (Wiederhold, 2018). Alcuni polienici (l'*amfotericina B*, ad esempio) si fissano preferenzialmente all'ergosterolo, presente solo nella membrana cellulare dei miceti, piuttosto che al colesterolo, presente nella membrana delle cellule mammifere, il che spiega una pur modesta tossicità selettiva di questi farmaci, tale da permettere il loro impiego clinico, seppure sempre rischioso.

Il meccanismo d'azione molecolare dei polienici ci chiarisce poi una delle ragioni della loro tossicità in campo clinico, tossicità che si manifesta con fenomeni di anemia emolitica: tali fenomeni sono dovuti all'ancoraggio del farmaco anche a gruppi sterolici della membrana plasmatica delle emazie, con alterazione della permeabilità della membrana stessa e conseguente emolisi. Inoltre, una volta fissatisi alla membrana cellulare dei miceti, i polienici sono in grado di determinare gravi alterazioni funzionali: si è visto, ad esempio che possono inibire a livello della membrana, alcune importanti attività enzimatiche (latticodeidrogenasica, fosfatasi, ATPasi) e interagiscono con lipoproteine di membrana con formazione di radicali liberi (Ledbetter, 2017).

I polienici del tipo *amfotericina B* e *nistatina* possono legarsi alla membrana delle cellule fungine in due modi: in modo reversibile, con un'azione di tipo fungistatico, e in modo irreversibile, con lisi della cellula e quindi attività fungicida. A basse dosi l'*amfotericina B* agisce con attività fungistatica alterando la permeabilità della membrana cellulare.

L'aumentata permeabilità della membrana può favorire la penetrazione nella cellula fungina di altri farmaci, quali ad esempio la *flucitosina*, questo spiega il sinergismo d'azione esistente tra *amfotericina B* e *flucitosina* anche a dosi sub-terapeutiche del polienico. L'attività antifungina dell'*amfotericina B* è di tipo fungicida, di tipo concentrazione-dipendente, almeno nei confronti di *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Blastomyces dermatitidis*, *Histoplasma capsulatum*, *Sporothrix schenckii* e *Coccidioides immitis* (Seyedmousavi, 2018).

Tra gli effetti collaterali la nefrotossicità rappresenta quello più temuto, dovuto alla specificità del farmaco a fissarsi agli steroli dei lisosomi renali mentre è stato documentato che l'*amfotericina B* non riesce a fissarsi ai lisosomi epatici. Infine, i meccanismi di resistenza sono legati alla presenza di modificazioni qualitative e quantitative di ergosterolo nelle membrane cellulari dei miceti resistenti o anche ad un incremento dell'attività della catalasi con conseguente ridotta sensibilità al danno ossidativo prodotto dal farmaco.

Natamicina

La natamicina detta anche pimaricina è un macrolidico pentaenico prodotto da *Streptomyces natalensis* (da qui il nome natamicina) scarsamente solubile in acqua ma solubile in polietilene-glicol e si presenta sotto forma di sospensione bianca densa.

È stato approvato dalla *Food and Drugs Administration* per il trattamento delle cheratiti fungine nell'uomo ed è il solo farmaco ad uso oftalmico disponibile per questo tipo di patologie (Ledbetter, 2017). Presenta un ampio spettro d'azione essendo attiva su lieviti e muffe, su dermatofiti e su *Trichomonas vaginalis*, attualmente è il farmaco di elezione per le infezioni localizzate (oftalmiche) da *Fusarium solari*.

La natamicina è comunemente utilizzata negli equini per applicazione locale (spugnature locali) nel trattamento delle dermatomicosi, nella mammella per le mastiti da lieviti e nell'occhio per le cheratiti micotiche (Sahay, 2019). Al contrario non è efficace per il trattamento

delle infezioni micotiche profonde dell'occhio per la sua scarsa capacità di penetrare nell'epitelio corneale intatto. Inoltre, nell'equino il trattamento delle cheratiti da *Fusarium* richiede l'instillazione di 1 goccia di una sospensione oftalmica al 5%, mentre nelle dermatomicosi come per esempio nell'aspergilloso nasale il trattamento è per uso topico sotto forma di crema. Infine è stato documentato l'utilizzo terapeutico della natamicina tramite applicazioni locali nella metrite da *Candida*.

Nistatina

Questo polienico ha una struttura tetraenica, è stato isolato per la prima volta nello Stato di New York nel 1951 da *Streptomyces noursei* e il suo nome deriva per l'appunto da *New York State (Nystatin)*. Determina una disorganizzazione della membrana micotica occupando i siti di legame degli ergosteroli ed alterando la permeabilità di membrana con conseguente uscita di ioni dalla cellula. La nistatina è attiva nei confronti di *Candida*, di *Cryptococcus*, di *Pityrosporum*, di dermatofiti, di alcuni funghi filamentosi e di alcuni funghi dimorfici (Bassetti, 2010).

L'indicazione elettiva di questo farmaco è la terapia topica delle candidosi infatti la somministrazione orale è indicata proprio per lo scarso assorbimento a livello gastroenterico. Il farmaco può essere utilizzato anche mediante altri impieghi topici: cutaneo, vaginale, endovescicale ed endobronchiale. Negli equini spesso il farmaco può essere utilizzato per trattare le metriti da *Candida* (Ledbetter, 2017). Infine nistatina e amfotericina B possono essere combinati per uso oftalmico negli equini.

Amfotericina B

L'amfotericina B è un eptene prodotto da *Streptomyces nodosus*, è un macrolide polienico anfotero scarsamente solubile in acqua ed instabile a 37°C. La sua attività è massima ad un pH compreso tra 6.0 e 7.5 mentre è minima a pH inferiori.

La forma di amfotericina B desossicolato sodico in tampone fosfato è più idrosolubile e può essere somministrata per via endovenosa come per esempio nelle infezioni fungine sistemiche (Goodman and Gilman, 2019). Il complesso amfotericina B-desossicolato viene diluito in soluzione isotonica glucosata a pH superiore a 4 con la formazione di una dispersione colloidale di particelle di discrete dimensioni. L'emivita di questa formulazione è molto lunga, circa 24 ore, poi il farmaco presenta una seconda fase di eliminazione contraddistinta da un'emivita ancora più lunga (5 giorni e oltre) dovuta alla liberazione del farmaco dai depositi tissutali.

Per via orale l'amfotericina B esplica la stessa azione della nistatina anche se con l'amfotericina B si assiste ad un modesto assorbimento per tale via. Invece per via intramuscolare non viene assorbita mentre può essere utilizzata con successo per instillazione endovescicale, comunque la via elettiva di somministrazione nel trattamento delle micosi profonde rimane quella endovenosa. Presenta un elevato legame alle proteine plasmatiche (95%), non è sottoposta a metabolismo epatico mentre è eliminata per il 5% per via renale anche se nell'uomo è escreta per diverse settimane dopo l'interruzione della terapia (Houšť et al., 2020).

L'amfotericina B ha un'attività di tipo fungistatico e presenta un ampio spettro d'azione nei confronti di *Blastomyces dermatitidis*, *Histoplasma capsulatum*, *Cryptococcus neoformans*, *Candida* spp., *Sporothrix schenckii* e *Coccidioides immitis* (Prasad et al., 2016).

È stato documentato che alcuni funghi filamentosi risultano essere con una certa variabilità sensibili o resistenti, ricordiamo per esempio che l'*Aspergillus* è quello che rivela più frequentemente resistenza, infatti negli equini l'amfotericina B non è utile per il trattamento locale della cheratite micotica a causa proprio della sua scarsa attività su quest'ultimo oltre ad ave-

re una azione irritante locale. Il farmaco è utilizzato, invece, con successo per il trattamento delle ficomicosi localizzate che richiedono un trattamento di oltre 6 settimane.

Si preferisce somministrare l'amfotericina B a giorni alterni con livelli posologici variabili da 0.5 a 1.5 mg/kg per via endovenosa diluiti in soluzione di glucosio al 5%. Questo farmaco a concentrazioni comprese tra lo 0.15% e lo 0.2% è utilizzato per lo più per applicazione topica oftalmica mentre è possibile utilizzare negli equini la somministrazione subcongiuntivale e intracorneale anche se non abbiamo conoscenza sulla distribuzione del farmaco nel tessuto oculare (Ledbetter, 2017).

Tra gli effetti collaterali la nefrotossicità è quella più presente, il controllo dell'azotemia (BUN) o della creatininemia permette di evidenziare l'entità di tale danno che è possibile recuperare o con l'interruzione della terapia o con la riduzione del dosaggio. Altri effetti collaterali sono le tromboflebiti nel sito di iniezione ed ipocalcemia con conseguenti aritmie cardiache, sudorazione, malessere e depressione.

PIRIMIDINE

Flucitosina

La flucitosina è farmaco a basso peso molecolare, 5-fluorocitosina, pirimidina fluorata (derivato fluorato della citosina): 4-amino-5-fluoro-2-pirimidone. Essa si presenta come polvere cristallina, incolore, dotata di basso peso molecolare, scarsamente solubile in acqua e facilmente solubile in alcool. È il primo antimicotico di sintesi provvisto di un'ottima biodisponibilità orale, con un'eccellente diffusione nei tessuti, assenza di biotrasformazione metabolica, eliminazione e concentrazione urinaria ed assenza di nefrotossicità.

Viene impiegata come antimicotico d'accompagnamento, soprattutto a causa della relativa frequenza di fenomeni di resistenza primaria ed acquisita (Bassetti, 2010). Infatti, si preferisce la combinazione con l'amfotericina B che costituisce un esempio di sinergismo farmacologico, quest'ultima migliora la capacità della flucitosina di penetrare nella cellula fungina (Prasad, 2016). Il meccanismo fungistatico della flucitosina si esplica mediante inibizione dell'RNA e del DNA del nucleo micotico, con i quali entra in competizione metabolica; in pratica si comporta come un antimetabolita della citosina. Inoltre, nell'RNA della cellula micotica avviene una deaminazione della flucitosina da parte della citosina-deaminasi micotica, con conversione in 5-fluorouracile. Quest'ultimo composto blocca la sintesi del DNA interferendo, quindi, con la sintesi proteica.

La flucitosina ha uno spettro d'azione stretto, è attiva nei confronti della maggior parte dei ceppi di *Cryptococcus neoformans*, nell'80-90% di *Candida* spp., di *Torulopsis*, dei *Caldo-sporium*, mentre un numero ristretto di ceppi di *Aspergillus* risultano essere sensibili come anche i dermatofiti al contrario i funghi filamentosi ed i funghi dimorfici sono invece resistenti (Vermes et al., 2000). Attualmente è usata, anche se di rado, nelle infezioni oculari negli equini anche se è stata documentata una scarsa penetrazione all'interno dei tessuti oculari.

ECHINOCANDINE

Le echinocandine sono una nuova classe di antifungini semisintetici che si presentano come grandi molecole lipopeptidiche, caratterizzate strutturalmente da un nucleo centrale ciclico esapeptidico a cui sono unite catene laterali variamente configurate di natura lipidica. Il nucleo centrale ciclico esapeptidico è caratterizzato dalla presenza di diversi residui aminoacidici come il 3, 4-diidrossi-ornitina, il 3-metil-4-idrossi-prolina, il 3,4-diidrossi-omotirosina e il 3-idrossi-

prolina e due residui di treonina. Questi sono vitali per l'attività antifungina e caratterizzano le proprietà chimico-fisiche dell'echinocandina B e dei suoi congeneri (Houšť et al., 2020).

Il residuo amminoacidico omotirosina è essenziale per l'attività antifungina e per il meccanismo d'azione mentre i residui di prolina aumentano la potenza del farmaco ed i gruppi ossidrilici, insieme agli altri residui amminoacidici, migliorano invece la stabilità in soluzione e ne aumentano la solubilità in acqua. Nel nucleo dell'echinocandina B è legata una catena laterale di acido grasso linoleico che è fondamentale per l'attività antifungina, infatti funziona a modo di ancora che si lega alla parete cellulare fungina.

La caratteristica di questi nuovi lipopeptidi (accanto alle echinocandine esistono altri analoghi di questi farmaci: le pneumocandine e le papulocandine) è il meccanismo d'azione che li distingue da tutti gli altri antimicotici sistemici conosciuti. Infatti, questi chemioterapici non sono attivi come quasi tutti gli altri antimicotici sulla membrana cellulare dei miceti, ma sulla parete cellulare dei miceti stessi. Questo permette dal punto di vista terapeutico la possibilità di ricorrere a razionali associazioni di farmaci antimicotici e ad un'ottima tollerabilità di questi farmaci dotati di un meccanismo d'azione selettivo.

Le echinocandine infatti agiscono su una struttura non posseduta dalle cellule eucariotiche: la parete cellulare. Questo meccanismo è dato dal blocco della sintesi del glucano della cellula fungina attraverso l'inibizione non competitiva del complesso enzimatico β -1,3-D-glucano sintasi. La sintesi del glucano avviene a livello del lato citoplasmatico della membrana della cellula fungina dove si formano delle fibrille lineari di glucano che vengono incorporate all'interno della parete cellulare fungina legandosi in modo covalente alla chitina con conseguente formazione di una struttura rigida che conferisce la forma alla cellula (Pianalto and Alspaugh, 2016).

La β -1,3-D-glucano sintasi è un complesso enzimatico che appartiene alla classe delle glicosiltransferasi, costituito da una subunità catalitica Fksp intracellulare legata ad UDP-glucosio e da una subunità regolatoria intracellulare Rho1 di tipo Ras legata a GTP, il complesso polimerizza UDP-glucosio in β -1,3-D-glucano che verrà poi incorporato nel cell-wall.

Le echinocandine si legano in modo non competitivo alla subunità Fksp bloccando la sintesi del β -1,3-D-glucano che determina un'alterata permeabilità della parete cellulare che porta ad uno squilibrio delle pressioni osmotiche intracellulari con conseguente lisi della cellula fungina (a. Patil and Majumdar, 2017; b. Patil and Majumdar, 2017).

Questo effetto fungicida (concentrazione-dipendente con prolungato effetto post-antibiotico di oltre 12 h) appartiene a tutte e tre le echinocandine, la **casprofungina**, l'**anidulafungina** e la **micafungina** su *Candida* spp. e *Saccharomyces* spp, mentre è stato evidenziato un effetto di tipo fungistatico su *Aspergillus* spp, (e con l'eccezione di *Cryptococcus neoformans*, di *Fusarium* spp. e di *Tricosporum beigeli*).

Le echinocandine condividono diverse caratteristiche farmacocinetiche, per esempio hanno un'insufficiente biodisponibilità per uso orale mentre si preferisce la somministrazione per via endovenosa.

La casprofungina e la micafungina hanno emivite molto simili, presentano un volume di distribuzione relativamente basso, maggiore è quello dell'anidulafungina rispetto a quello della micafungina, mentre per la casprofungina è stimato intorno a 9.67 L allo stato stazionario. Tutte e tre le echinocandine mostrano un elevato legame farmaco proteico (>95%) che potrebbe limitare la quantità di farmaco disponibile per la loro attività antifungina. Vengono metabolizzate a livello epatico (ma anche nelle ghiandole surrenali e nella milza) attraverso meccanismi diversi del sistema enzimatico del citocromo P450 (Bassetti, 2010).

Nel fegato vengono metabolizzate mediante idrolisi ed N-acetilazione, dopo un'iniziale fase di distribuzione, captazione epatica e degradazione, processo che avviene molto lentamente (per la casprofungina e per la micafungina), e che permette di conferire una lunga emivita (Ledbetter, 2017).

Da questo processo si formano due metaboliti attivi della micafungina che vengono escreti molto lentamente dall'organismo soprattutto a livello biliare, mentre l'escrezione a livello renale avviene in misura minore, solo l'1.44% della dose totale della caspofungina e il 15% della micafungina vengono escrete in forma immodificata a livello renale (Aguilar-Zapata et al., 2015).

Diverse prove hanno documentato che il fegato, la corteccia renale e la cute contengono la maggior parte del farmaco residuo o del metabolita. È stato documentato che la presenza di mutazioni a livello del sito catalitico Fksp rappresenta un fattore di rischio per l'insorgenza di fenomeni di resistenza, infatti si possono verificare sostituzioni aminoacidiche associate a resistenza in due regioni di Fksp e comprendono residui di Phe641-Pro649 e residui di Arg1361 e Ser645 che rappresentano oltre il 75% della resistenza di *Candida albicans*, con conseguente alterazione della capacità catalitica della glucano sintasi (Douglas, 2001).

Tra gli effetti collaterali frequente è la liberazione di istamina dovuta alle caratteristiche chimiche delle echinocandine, sono inoltre presenti fenomeni di irritazione locale nel sito di inoculo. Sono stati riportati: tossicità epatica, anemia emolitica anche se meno evidente, febbre, rush cutaneo con vampate di calore mentre abbastanza frequenti i casi di emicrania (Stone et al., 2002; Traunmüller, 2011).

Dobbiamo infine tener presente che i dati in nostro possesso riguardano la medicina umana, l'uso terapeutico delle echinocandine in campo veterinario e in particolare negli equini, non ha ancora trovato un utilizzo per questo motivo le informazioni a nostra disposizione sono molto limitate.

ALLILAMINE

La terbinafina è un chemioterapico antimicotico di sintesi che appartiene alla famiglia delle allilamine approvato nell'uomo per il trattamento dei dermatofiti. Le allilamine inibiscono, in modo non competitivo, la biosintesi dell'ergosterolo della membrana cellulare dei miceti sensibili attraverso l'inibizione dell'enzima squalene epossidasi prevenendo la epossidazione dello squalene, una tappa importante nella sintesi dell'ergosterolo con conseguente accumulo di squalene e deficit di ergosterolo. Inoltre, la terbinafina possiede una spiccata azione antinfiammatoria (Elad, 2018).

La terbinafina può essere usata per via sistemica nel trattamento delle micosi superficiali essendo buona la sua biodisponibilità dopo somministrazione orale, penetra molto bene e rapidamente nel tessuto adiposo, nello strato corneo e nelle unghie. Viene notevolmente metabolizzata a livello epatico dal citocromo P450 con produzione di metaboliti inattivi come l'idrossiterbinafina, la n-desmetilterbinafina, la desmetilidrossiterbinafina e la carbossiterbinafina, presenti sia nell'uomo che nell'equino (Williams et al., 2011). Viene eliminata lentamente per via renale.

L'emivita plasmatica di questo chemioterapico è di 12-16 ore anche se il farmaco persiste a lungo nei tessuti periferici con concentrazioni fungicide per settimane e mesi dopo l'ultima dose somministrata. Ha un ampio spettro d'azione sulla maggior parte delle muffe e dei funghi filamenosi. Il trattamento topico con una soluzione di terbinafina allo 0.2% ogni 4 ore per 7 applicazioni non ha evidenziato nell'equino concentrazioni di farmaco a livello dell'umore acqueo suggerendo che nelle infezioni fungine profonde, sia a livello intraoculare che della cornea, risulta essere inefficace.

La biodisponibilità nell'equino di terbinafina dopo somministrazione orale è limitata al metabolismo di primo passaggio, ovvero la sua concentrazione è notevolmente ridotta prima che raggiunga la circolazione sistemica (Youkin et al., 2017). A tal riguardo sono necessari altri studi per valutare altre vie di somministrazione, come per esempio la via intramuscolare ed endovenosa, per evitare il metabolismo di primo passaggio e per raggiungere concen-

trazioni plasmatiche più elevate. La somministrazione di una singola dose di terbinafina negli equini produce effetti collaterali non gravi generalmente sono evidenziati dall'apertura e dalla chiusura della bocca più volte con scuotimento della testa, arricciamento delle labbra e battitura del terreno che spesso si risolvono spontaneamente. Inoltre, il sapore sgradevole del farmaco può causare irritazione della mucosa orale, mentre si possono evidenziare febbre e coliche minori (Elad, 2018).

INIBITORI DELLA SINTESI DELLA CHITINA

Il lufenuron è un insetticida, un derivato benzolico dell'urea che inibisce la sintesi della chitina, la polimerizzazione e la sua deposizione. Per questo motivo è stato introdotto anni fa nel trattamento delle infezioni fungine nell'equino, tra queste l'endometrite, la micosi della sacca gutturale e la sinusite paranasale. È stato anche utilizzato come pesticida in agricoltura e nel controllo delle pulci in cani e gatti (Scotty et al. 2005).

Più recentemente ha avuto impiego nel trattamento delle cheratomicosi nell'equino anche se i dati a disposizione sull'efficacia del Lufenuron sulle diverse specie fungine sono molto pochi. A riguardo sono necessarie ulteriori ricerche per documentare l'utilizzo di lufenuron nelle infezioni fungine nell'equino in quando le evidenze a disposizione non supportano il suo uso clinico (Ledbetter, 2017).

SULFADIAZINA ARGENTICA

La sulfadiazina argentica reagisce con il DNA della cellula fungina impedendo l'apertura della doppia elica con conseguente inibizione della replicazione. Evidenze sperimentali *in vitro* hanno documentato le proprietà antifungine della sulfadiazina argentica contro funghi filamentosi isolati da cheratomicosi di equino come per esempio *Aspergillus*, *Fusarium*, *Curvularia*, *Scopulariopsis*, *Penicillium* e *Chrysosporium* spp ed evidenziato l'effetto fungicida dovuto al suo meccanismo d'azione (Ledbetter, 2017). Il farmaco è descritto essere sicuro ed efficace nelle infezioni fungine oculari nell'equino se somministrato per via topica.

IODOFORI

Sono una combinazione tra iodio ed un agente solubilizzante o trasportatore, che permette di ottenere una buona riserva di iodio che viene rilasciato lentamente in soluzione acquosa (Koerner et al., 2018).

Lo iodoforo povidone-iodio è un complesso chimico stabile di polivinilpirrolidone e iodio elementare, un microbicide ad ampio spettro con un meccanismo d'azione che dipende dallo iodio rilasciato dal complesso e conseguente ossidazione degli aminoacidi e degli acidi nucleici. Inoltre, l'interruzione delle vie metaboliche dei microrganismi porta alla destabilizzazione delle componenti strutturali sia della parete che della membrana cellulare. È utilizzato per uso topico nella terapia per la cheratomicosi nell'equino. Deve essere usato con cautela perché può causare tossicità locale durante l'irrigazione oculare, per attenuare fenomeni irritativi, lo povidone-iodio viene generalmente applicato non più di una volta al giorno, è consigliabile lavare a fondo la superficie oculare entro 5 minuti dall'applicazione (Houšť, 2020).

GLUCOCORTICOIDI

I glucocorticoidi comprendono un importante gruppo di farmaci comunemente prescritti in ambito veterinario con vari effetti farmacologici. Sono utilizzati nella pratica clinica giornaliera per la gestione nella maggior parte delle patologie negli equini tra cui processi infiammatori delle vie respiratorie, dermatite, porpora emorragica, infiammazione e trauma del sistema nervoso centrale, epatite, anemia emolitica immuno-mediata, trombocitopenia immuno-mediata, neoplasia, shock e infiammazione oftalmica. Sovente gli stati infiammatori ed allergici sono difficili da diagnosticare non è infrequente che si verifichi un uso improprio di tali farmaci. Tuttavia, il termine “corticosteroidi” è generalmente usato per riferirsi ai glucocorticoidi, così chiamati per i loro diversi effetti (Annunziato and Di Renzo, 2016).

I *corticosteroidi* sono una classe di ormoni steroidei rilasciati dalla corteccia surrenale, comprendono i *glucocorticoidi* e i *mineralcorticoidi*, sono prodotti principalmente dalla zona glomerulosa e dalla zona fasciculata della ghiandola surrenale e caratterizzati da una pletera di funzioni (Behrend and Greco, 1997). Nell'uomo, il principale glucocorticoide è rappresentato dal cortisolo, mentre l'aldosterone è il principale mineralcorticoide. I corticosteroidi sono costantemente sintetizzati sotto il controllo dell'ipotalamo e dell'ipofisi. Le concentrazioni di cortisolo e corticosterone nel plasma influenzano la secrezione di ACTH (Boothe and Mealey, 2001). La somministrazione di corticosteroidi esogeni può anche sopprimere la secrezione di ACTH, con un grado di soppressione che dipende dal particolare farmaco somministrato (MacDonald, 2000).

Si pensa che gli steroidi entrino nella cellula per diffusione passiva. Almeno tre recettori steroidei sono stati identificati e associati a diversi effetti fisiologici (Funder, 1992). Ogni tipo di cellula ha recettori glucocorticoidi (GR), con un tipo ed una concentrazione del recettore che variano tra le diverse specie e i tessuti stessi (Boothe and Mealey, 2001). Gli effetti dei corticosteroidi sono numerosi e diffusi, comprendono alterazioni del metabolismo dei carboidrati, delle proteine e dei lipidi, mantenimento del bilancio idrico ed elettrolitico, mantenimento di una normale funzione del sistema cardiovascolare, del sistema immunitario, del rene, del muscolo scheletrico, del sistema endocrino e del sistema nervoso (Standora et al., 2017). Le azioni dei glucocorticoidi sono correlate a quelle di altri ormoni, per esempio in assenza di ormoni lipolitici, il cortisolo non ha alcuno effetto sull'attività lipolitica negli adipociti, o al contrario in assenza di glucocorticoidi, l'adrenalina e la noradrenalina esercitano solo minimi affetti sulla lipolisi. Gli effetti dei glucocorticoidi che coinvolgono azioni concertate con altri ormoni sono definiti *permissivi* e molto probabilmente riflettono le modificazioni della sintesi proteica inodotta dagli steroidi.

I glucocorticoidi influenzano profondamente il metabolismo dei carboidrati e delle proteine, stimolano il fegato a sintetizzare glucosio a partire dagli amminoacidi e dal glicerolo e a immagazzinare glucosio sotto forma di glicogeno. Ricordiamo che la potenza degli steroidi sul metabolismo glucidico va di pari passo con la potenza della loro potenza antinfiammatoria (MacDonald, 2000; Goodman and Gilman, 2019). La loro attività varia in relazione alla loro potenza, all'effetto mineralcorticoide, all'effetto antiinfiammatorio, all'emivita plasmatica e alla durata dell'effetto biologico.

L'idrocortisone (cortisolo) è l'ormone considerato standard con cui vengono confrontati gli altri glucocorticoidi. Il cortisolo ha un'attività antinfiammatoria e mineralcorticoide pari a 1, mentre il prednisone e il prednisolone, rispetto al cortisolo, hanno un'attività anti-infiammatoria intermedia e una minore attività mineralcorticoide, mentre i composti fluorurati, come desametasone, betametasone e triamcinolone hanno una potente attività anti-infiammatoria ma sostanzialmente nessun effetto mineralcorticoide (Coppoc, 1984).

Il legame tra glucocorticoidi ed esteri insolubili in acqua non fa altro che prolungare l'inizio e la durata dell'azione, rallentando l'assorbimento (Calvert and Cornelius, 1990). I gluco-

corticoidi vengono rilasciati per giorni o settimane come esteri moderatamente solubili e per settimane o mesi come esteri scarsamente solubili, come acetone, pivalato e dipropionato. L'esterificazione, in alcuni casi, può anche aumentare la potenza antinfiammatoria mentre i sali idrosolubili hanno un effetto relativamente breve. Vengono escreti con le urine.

L'affinità di legame con le proteine varia a seconda del glucocorticoide somministrato, l'idrocortisone e il prednisone sono fortemente legati alla transcortina e all'albumina, pertanto, poiché il farmaco libero è attivo, i dosaggi devono essere adeguati negli animali con ipoproteinemia. L'emivita biologica è più lunga dell'emivita plasmatica (Greene, 1983). Ad esempio, il prednisolone ha un'emivita plasmatica superiore ad 1 ora, sebbene la soppressione dell'asse HPA continui per 12-36 ore. Gli effetti sul sistema immunitario dipendono dal dosaggio utilizzato.

I glucocorticoidi bloccano la sintesi di prostaglandine e leucotrieni. La mieloproliferazione dei fibroblasti e la sintesi di collagene è anche soppressa dai glucocorticoidi (Cohn, 1997). A dosi più elevate, i glucocorticoidi sono in realtà immunosoppressori. Sfortunatamente, i benefici terapeutici dei glucocorticoidi sono limitati dagli effetti collaterali associati alla dose elevata utilizzata durante il trattamento e all'uso a lungo termine (Ramamoorthy and Cidlowski, 2016). Tra questi effetti dobbiamo menzionare quelli legati alla sospensione della terapia e quelli correlati alla continua assunzione di sovradosaggi. Nel primo caso si può assistere ad una sindrome con manifestazioni diverse come mialgia, artralgia e astenia invece nel secondo caso si possono avere anomalie dei liquidi e degli elettroliti, un'aumentata suscettibilità alle infezioni, osteoporosi, cataratta, e comparsa di strie ed ecchimosi. Sebbene la funzionalità epatica non sia generalmente interessata, l'epatomegalia può provocare gonfiore addominale, si può avere tachipnea o dispnea a causa di un indebolimento dei muscoli intercostali (Nelson et al., 1988). Inoltre, la debolezza dei muscoli scheletrici è la conseguenza della deplezione del potassio con perdita effettiva del tessuto muscolare ad opera di un catabolismo prolungato. In alcuni casi i muscoli possono irrigidirsi a causa della miopatia steroidea (Greene et al., 1979).

Come conseguenza della ridotta attività fibroblastica, la guarigione delle ferite è scarsa e le pareti dei vasi sanguigni si indeboliscono, promuovendo così lividi. La calcinosi cutanea, una calcificazione distrofica del derma, può verificarsi anche negli animali in terapia cronica con glucocorticoidi. Nel tratto gastrointestinale, i glucocorticoidi causano una riduzione della produzione di muco gastrico e una riduzione del turnover delle cellule epiteliali gastriche, con conseguente tendenza all'ulcerazione gastrica (DeNovo, 1994). La riduzione della porzione acquosa delle secrezioni pancreatiche e della proliferazione delle cellule del dotto pancreatico può predisporre alla pancreatite quando si usano glucocorticoidi ad alte dosi (Hall et al., 1988). Infine, è stato documentato come in corso di terapia, i glucocorticoidi sono diabetogenici, possono cioè indurre diabete negli animali normali, ridurre la sintesi dell'ormone tiroideo (Peterson et al., 1984) ed avere effetti diretti sul sistema nervoso centrale con euforia, eccitamento e depressione (Calvert and Cornelius, 1990; Feldman and Nelson, 1996).

I glucocorticoidi interagiscono con specifiche proteine recettoriali nei tessuti bersaglio per regolare l'espressione dei geni responsivi ai corticosteroidi, modificando quindi i livelli e i tipi di proteine espresse nei diversi tessuti bersaglio.

Il meccanismo d'azione dei glucocorticoidi è mediato dal recettore dei glucocorticoidi intracellulare (GR), che appartiene alla famiglia dei fattori di trascrizione per i recettori nucleari attivati dai ligandi, localizzati in modo preminente nel citoplasma in una forma inattiva complessati con altre proteine (*heat shock protein*, proteine da shock termico).

Il legame dello steroide determina l'attivazione dei recettori e la loro dissociazione dalle proteine *hsp* e la traslocazione nel nucleo dove interagiscono con specifiche sequenze di DNA denominate GRE, che conferiscono la specificità dell'induzione della trascrizione genica da parte dei glucocorticoidi (Adcock and Mumby, 2017). Il legame in genere coinvolge la pre-

senza di altre proteine chiamate “*proteine chaperon*” e può provocare sia un aumento sia una diminuzione della trascrizione a seconda della cellula bersaglio.

La velocità di trascrizione genica è modulata dal reclutamento di diverse proteine e complessi intranucleari dotati di attività co-regolatoria. Il recettore dei corticosteroidi interagisce con l'elemento responsivo solo per pochi secondi prima di dissociarsi e sembra svolgere un effetto tipo “mordi e fuggi” sulla trascrizione genica.

Quando i corticosteroidi sono somministrati a scopo terapeutico la risposta è ritardata di molte ore a causa del tempo necessario per la modulazione della sintesi proteica. Alcune azioni dei GC hanno tuttavia un esordio relativamente rapido che avvengono in pochi secondi o minuti, dopo l'attivazione del recettore citosolico o di membrana, che non richiedono la trascrizione genica (vie di signalling non genomico) ma risultano essere mediate dalla semplice interazione del recettore con l'elemento responsivo e conseguente attivazione di varie chinasi intracellulari (Goodman and Gilman, 2019).

Il legame dei glucocorticoidi al GR non solo attiva il recettore ma facilita il rilascio di una serie di proteine accessorie che attivano una cascata di segnali secondari come per esempio la c-SRC che attraverso una cascata di segnali inibisce l'attività della fosfolipasi A2 alterando il rilascio di acido arachidonico (Vandewalle et al., 2018; Papich, 2010).

Le molecole sintetiche utilizzate a scopo farmacologico derivano dal cortisolo (idrocortisone) ma, grazie ad alcune modificazioni della struttura chimica, sono dotate di una maggiore attività antiinfiammatoria (glicorticoidea) associata ad un minor effetto sodio-ritentivo (mineralcorticoide). L'azione immunomodulatoria è dovuta principalmente all'inibizione dell'attività di fattori di trascrizione proinfiammatori come:

- a) La proteina attivatrice -1 (**AP-1**)
- b) Il fattore nucleare kappa B (**NF-kB**) (*trans-repressione-genica*).

I recettori dei GC attivati reclutano l'enzima *istone deacetilasi* sul complesso di trascrizione di geni attivati da stimoli infiammatori. La *deacetilazione* del nucleo istonico a livello del complesso di trascrizione seleziona i geni. Inoltre, possono attivare anche geni antinfiammatori (transattivazione genica) che contribuiscono alla loro azione immunomodulatoria (Cain and Cidlowski, 2017).

Le modificazioni chimiche della molecola del cortisolo hanno dato origine a derivati con attività glucocorticoide e mineralcorticoide maggiormente differenziate. Per molti dei glucocorticoidi sintetici, gli effetti sugli elettroliti sono minimi, anche alle dosi più alte utilizzate. Inoltre, queste modificazioni hanno generato derivati con maggiore potenza e più lunga durata d'azione, sono attualmente disponibili diverse preparazioni contenenti steroidi per uso orale, parenterale e topico.

Per nessuno di questi derivati attualmente disponibili è possibile separare efficacemente gli effetti antinfiammatori da quelli sul metabolismo carboidrati, delle proteine e dei grassi o dagli effetti soppressori sull'asse ipotalamo-ipofisi-surrene.

L'attività glicorticoidea risulta maggiore in presenza di un doppio legame tra C1 e C2, così come in presenza di gruppi chetonici sul C3 e sul C20. La presenza della funzione ossidrilica sul C12 e C17 è indispensabile per l'attività del composto mentre l'alogenazione in posizione 9 (un atomo di F o di Cl), la non saturazione del legame in posizione 1-2 e la metilazione sul C2 e sul C16 aumentano la capacità di legame alle proteine plasmatiche e prolungano l'emivita dei glucocorticoidi di circa il 50-70%.

Quest'ultima dipende altresì dal rapporto tra idrosolubilità e liposolubilità del composto: l'esterificazione in C21 con radicali diversi influenza il rilascio della base dal sito di inoculo ad opera delle esterasi tissutali. Ad esempio, i succinati e i fosfati sono maggiormente idrosolubili e vengono rapidamente idrolizzati, mentre gli acetati e gli acetoni favoriscono un lento assorbimento della molecola aumentandone la lipofilia.

Le sostituzioni a livello dell'estere in posizione 17 hanno consentito di ottenere una nuova classe di steroidi estremamente potenti come il *desametasone*, il *betametasone* e il *beclometasone*, efficaci a livello topico e utili nel trattamento delle affezioni cutanee e per via inalatoria nella patologia respiratoria (Badino and Re, 2009).

I glicocorticoidi sono caratterizzati da un rapido assorbimento: se somministrati per os raggiungono il picco ematico dopo due ore, mentre in caso di trattamento per via i.m., i massimi livelli ematici vengono raggiunti entro un'ora, salvo l'utilizzo di particolari composti esterificati a livello del C21. In circolo vengono veicolati principalmente dalla transcortina, una α -globulina specifica, e in misura minore dall'albumina; la percentuale di legame dei composti di sintesi con le proteine plasmatiche è inferiore a quella dei corrispondenti ormoni endogeni (pari a circa il 90%), pertanto tendono a trasferirsi con maggiore facilità ai tessuti, esplicando un'azione farmacologica più rapida ed intensa.

La biotrasformazione di tali molecole avviene prevalentemente nel fegato tramite reazioni di ossidazione, catalizzate principalmente dal citocromo P450 e dalle steroido-deidrogenasi e di coniugazione con acido glucuronico e solfato. I metaboliti polari così originatisi sono per lo più inattivi e vengono escreti soprattutto per via urinaria.

Nel complesso, le modificazioni strutturali fanno sì che i derivati sintetici, a differenza dei composti naturali, vengano biotrasformati in misura minore e più lentamente, caratteristica che, ancora una volta, ne prolunga la durata d'azione.

Le indicazioni terapeutiche dei glicocorticoidi sono molteplici e come abbiamo già evidenziato comprendono numerose patologie, sia metaboliche sia infiammatorie, tanto nei piccoli quanto nei grandi animali. La durata d'azione di questi farmaci può essere prolungata fino a tempi superiori alle 48 ore come nel caso del *desametasone* (DEX), *betametasone* e *flumetasone*, tra i principi attivi più potenti e maggiormente impiegati nella clinica veterinaria (Ferguson and Hoening, 1995).

Il *desametasone* (DEX) è un corticosteroide caratterizzato da un'azione antinfiammatoria prolungata e potente, circa 25 volte superiore rispetto a quella del cortisone. Il DEX viene largamente utilizzato in caso di disordini muscolo-scheletrici, chetosi primaria, reazioni allergiche, shock ipovolemico e affezioni cutanee di diversa natura, spesso associato ai chemioantibiotici per la terapia di supporto delle malattie batteriche ad evoluzione iperergica.

Generalmente la somministrazione del DEX a scopo terapeutico avviene per via parenterale, mediante inoculo endovenoso (maggiore rapidità d'azione, indispensabile ad esempio in caso di shock) o intra-muscolare (i.m., azione prolungata dovuta al lento rilascio di alcuni esteri) è raccomandata anche la via intrarticolare (Ekstrand, 2019). Evidenze sperimentali hanno documentato come negli equini con ostruzione delle vie aeree, la somministrazione di DEX una volta al giorno migliora la funzione polmonare entro il 3° giorno di trattamento con un effetto massimo al 7° giorno.

Invece le preparazioni ad uso oftalmico vengono impiegate per ridurre l'infiammazione nel tratto uveale in patologie come l'uveite ricorrente negli equini.

In seguito a somministrazione per via endovenosa il DEX ha un'emivita plasmatica di circa 5 ore, la biotrasformazione epatica dà origine principalmente a composti inattivi, ossidati o coniugati con solfati e acido glucuronico (Tainturier et al., 1982; Toutain et al., 1982; Gaignage et al., 1991).

La quota di farmaco che viene biotrasformata è decisamente modesta, infatti nelle urine lo troviamo prevalentemente in forma libera e soltanto il 3-20% è rappresentato da metaboliti di fase II. La velocità di eliminazione urinaria è piuttosto elevata, indipendentemente dalla via di somministrazione utilizzata (Vincenti et al., 2009).

Tra gli effetti collaterali più ricorrenti negli equini dobbiamo registrare la laminite causata probabilmente dall'accresciuta reattività vascolare alle amine biogene, altri effetti collaterali

da ricordare sono l'ipofunzionalità surrenalica di tipo iatrogeno o il ritardo nella guarigione delle ferite.

Il desametasone 21-isonicotinato è un estere dell'acido piridina-4-carbossilico di desametasone, un glucocorticoide a basso dosaggio, con una lunga durata d'azione approvato per l'uso negli equini per il trattamento di artriti, tenovaginiti, lombaggini, zoppicature, colpi di sole e nell'ostruzione delle vie aeree (Bond et al., 2020). Presenta minori effetti collaterali e fornisce un'attività antinfiammatoria prolungata.

Per quanto riguarda il *betametasone*, un corticosteroide con una potente attività antinfiammatoria e una lunga durata d'azione, può essere somministrato per via intra-articolare (*betametasone acetato* e *betametasone sodio fostato*) ma è consigliabile un uso moderato a causa delle alterazioni che potrebbe indurre sulla cartilagine articolare (Knych et al., 2017).

Abbiamo poche evidenze sperimentali sulla farmacocinetica del *betametasone* dopo somministrazione per via intrarticolare sia nel cavallo che nell'asino, la presenza di un atomo di fluoro in posizione 9 insieme al doppio legame tra il C-1 e il C-2 rallentano i processi metabolici a livello epatico favorendo la lunga durata d'azione. Gli effetti collaterali sono generalmente associati a somministrazioni a lungo termine e a dosaggi elevati oppure a protocolli terapeutici che non prevedano il trattamento a giorni alterni.

Il *beclometasone* viene utilizzato nelle affezioni respiratorie come per esempio nell'asma che si caratterizza negli equini con ostruzione reversibile delle vie aeree, iperattività bronchiale ed infiammazione delle vie aeree dovute ad esposizione di animali sensibili a specifici agenti dispersi nell'aria.

I trattamenti a lungo termine con corticosteroidi per via inalatoria e agonisti dei β_2 recettori a lunga durata d'azione sono efficaci nel migliorare le condizioni cliniche degli equini prevenendo le esacerbazioni (Klier et al., 2019). Per quanto riguarda i corticosteroidi somministrati per via sistemica si usano in caso di iperresponsività sintomatica delle vie aeree durante la fase di esacerbazione.

Il *beclometasone dipropionato* è un cortisonico topico ottenuto per esterificazione del beclometasone con acido propionico allo scopo di incrementare la lipofilia della molecola. Una volta inalato viene assorbito rapidamente e convertito nel suo metabolita attivo il beclometasone 17-monopropionato (17-BMP), altamente lipofilo, conversione che avviene per la maggior parte a livello delle cellule presenti nei tessuti polmonari ed in misura minore a livello epatico, questo contribuisce a ridurre il rischio di effetti collaterali sistemici. È una reazione mediata da un'esterasi che attraverso un processo di idrolisi determina una scissione dell'estere in posizione C-21.

Il metabolita 17-BMP è dotato di un'elevata affinità recettoriale relativa che risulta essere 27 volte superiore a quella del BDP, infatti è stato documentato che un'importante quota del 17-BMP inalato si legherà avidamente ai recettori dei corticosteroidi delle cellule dell'apparato respiratorio e solo una frazione minima sarà immediatamente rilasciata e successivamente assorbita nella circolazione sistemica (Laurent et al., 2006). La stabilità del 17-BMP nel polmone umano è elevata: nelle due ore successive all'inalazione solo circa il 10% del 17-BMP è idrolizzato a beclometasone (BOH), molecola con una bassa affinità recettoriale relativa, mentre nelle ore successive la conversione del 17-BMP in BOH interessa più del 90% della dose inalata.

Anche la quota ingerita di BDP viene esterificata a 17-BMP dal fegato, organo che è deputato anche a convertire il 17-BMP presente nella circolazione sistemica in metaboliti meno attivi, 21-BMP e BOH, che vengono poi eliminati con la bile. Come per gli altri GC inalatori, solo il 10% del BDP viene escreto con le urine. Ha un'emivita che varia seconda la via di somministrazione, se somministrato per via im ha un'emivita di 1.20 ore se invece somministrato per via inalatoria ha un'emivita intorno alle 4 ore. Esso si lega alle proteine plasmatiche

con una percentuale variabile tra l'87% ed il 96%, mentre è escreto sotto forma di metaboliti inattivi con le feci, per via biliare, e con le urine.

Diverse evidenze sperimentali hanno evidenziato negli equini come il BOH, somministrato per via inalatoria con dispositivo portatile appositamente progettato ad un dosaggio minimo di 500 mg ogni 12 ore, è risultato essere efficace nel trattamento dell'ostruzione ricorrente delle vie respiratorie (patologie di tipo ostruttivo molto gravi o croniche) con un miglioramento della funzione polmonare e una riduzione della soppressione surrenalica (Klier et al., 2019). È stato inoltre ipotizzato che l'intensa attività infiammatoria sia legata alla capacità di questa molecola di inibire fattori trascrizionali presenti a livello delle cellule bronchiali attraverso un meccanismo di repressione della trascrizione genica (transrepressione).

Il *flumetasone* è un estere corticosteroidico difluorinato a lunga durata d'azione, è un derivato del prednisolone ed è considerato il più potente corticosteroide con un'attività antinfiammatoria e neoglucogenetica da 60 a 80 volte maggiore del *prednisone* e 4 volte maggiore del *desametasone*. È utilizzato maggiormente negli animali di grossa taglia, negli equini il *flumetasone* è indicato nel trattamento dell'artrite e dei processi infiammatori associati a lesioni muscolo-scheletriche e disturbi immunologici, quali la porpora emorragica, la rinite allergica, l'orticaria e l'ostruzione ricorrente delle vie aeree.

Si lega al recettore dei GC stimolando l'inibizione della fosfolipasi A2 in modo indiretto attraverso l'induzione della sintesi di un gruppo di proteine chiamate annessine che modulano l'attività della fosfolipasi A2, con conseguente diminuzione del rilascio di acido arachidonico e quindi la biosintesi di prostaglandine e leucotrieni. Può sviluppare reazioni locali di ipersensibilità con sensazione di bruciore, prurito o eruzione cutanea nel sito di inoculo.

Il *triamcinolone acetonide/hexacetonide* sono comunemente usati per il trattamento intra-articolare (IA) della sinovite non infettiva, entrambi sono dotati di una potente attività antinfiammatoria e di una indiretta attività analgesica. Infatti, riducono la zoppia e il versamento articolare in presenza di sinovite e artrosi indotta, diminuiscono l'espressione di fattori catabolici e proinfiammatori nella cartilagine e/o nella membrana sinoviale (Ghouri and Cogan, 2019).

È stato documentato che il *triamcinolone* si caratterizza per la sua lunga permanenza nel liquido sinoviale, rispetto alle concentrazioni ematica e urinaria, infatti a seguito di una singola somministrazione intra-articolare permane nel liquido sinoviale per un massimo di 35 giorni, mentre le concentrazioni ematiche sono evidenti solo per 7 giorni (Silvinato and Wanderley, 2017). Questo permette di ricorrere a minori somministrazioni e ad utilizzare dosi minori.

Altre evidenze hanno documentato l'utilizzo del *triamcinolone* nelle affezioni polmonari, un singolo trattamento allevia l'ostruzione delle vie aeree per 2-3 settimane anche se è stato evidenziato che i GC a lunga durata d'azione hanno una maggiore probabilità a sviluppare effetti collaterali come fenomeni di soppressione immunitaria, malattia di Cushing iatrogena e forme di laminite.

Il *triamcinolone acetato* è un corticosteroide sintetico a rilascio prolungato (Lamonte et al., 2015) che presenta sia attività antinfiammatoria che immunosoppressiva attraverso l'inibizione della fosfolipasi A2 a livello dello strato fosfolipidico della membrana cellulare prevenendo la formazione di acido arachidonico. Questo porta ad una inibizione della migrazione dei macrofagi e dei leucociti nel sito interessato, ad una ridotta vasodilatazione e permeabilità vascolare con conseguente riduzione dell'edema, dell'eritema e del prurito.

Un importante meccanismo antinfiammatorio viene mediato dall'inibizione del fattore di trascrizione nucleare kappa-B (NF-kappa-B) che porta ad una ridotta espressione dell'interleuchina (IL-6), dell'interleuchina 8 (IL-8), dell'MC-1 e della COX-2.

Inoltre, è stato documentato che l'attività terapeutica di questo glucocorticoide a livello intrarticolare è dovuta ad un effetto diretto sul processo infiammatorio locale con una riduzione dell'infiammazione sinoviale mediata dalla riduzione dei livelli di citrullinazione delle protei-

ne articolari per ridotta espressione delle proteine stesse (Kuman et al., 2017). Il metabolismo di triamcinolone è principalmente epatico e l'eliminazione avviene per via renale e fecale.

Lo *ialuronato di sodio* presenta una buona attività antinfiammatoria ed analgesica, non abbiamo evidenze sperimentali che documentano il suo meccanismo d'azione a livello delle cellule articolari, mentre è documentato che non altera la cartilagine né la morfologia della membrana sinoviale. Inoltre, è stato dimostrato che l'effetto analgesico è dovuto ad una riduzione del rilascio di PGE2 a livello sinoviale e di IL-1 con una conseguente minore perdita di proteoglicano dalla cartilagine articolare. È possibile combinare un corticosteroide e lo *ialuronato di sodio* con una singola somministrazione, questo permette di ridurre al minimo gli effetti negativi del corticosteroide sul metabolismo della cartilagine, favorendo una riduzione più efficace della zoppia rispetto alla somministrazione del solo corticosteroide (Gupta et al., 2019).

È stato ipotizzato che la somministrazione di *ialuronato di sodio* dopo un trattamento con *triamcinolone acetato* potrebbe fornire ulteriori benefici sia clinicamente che in termini di condroprotezione. Non sempre questo dato è confermato, rispetto alla sola somministrazione di corticosteroide, nell'alleviare il quadro sintomatologico nell'artrite e nella sinovite non infettive.

Il *prednisone* ed il *prednisolone* sono due GC a media durata d'azione, il *prednisone* viene convertito a livello epatico in *prednisolone*, tranne in caso di insufficienza epatica dove è preferibile somministrare il prednisolone. È necessario ricordare che negli equini viene utilizzato il *prednisolone* in quando non assorbono il *prednisone*. L'emivita del *prednisone* e del *prednisolone* è compresa tra le 12-36 h.

L'utilizzo per via sistemica di dosi elevate di farmaco è consentito nelle reazioni anafilattiche, nei traumi e nello shock mentre dosaggi più bassi sono indicati nella patologia respiratoria dell'equino, nel prurito e nei processi infiammatori. È indicato nel trattamento della patologia articolare infiammatoria con somministrazione per via intra-articolare.

Il *prednisolone* è anche disponibile in associazione con altri farmaci come i salicilati, antibiotici ed antistaminici. La somministrazione di dosi elevate e per lunghi periodi di tempo è seguita da un'alta incidenza di effetti collaterali, per il *prednisolone* è preferibile una terapia a giorni alterni mentre nelle terapie a lungo termine non è consigliabile sospendere in modo drastico la terapia ma diminuire la dose e prolungare l'intervallo tra le dosi (McIlwraith and Lattermann, 2019). Evitare la somministrazione in animali in gravidanza, in quando nelle fasi iniziali della gestazione può dare effetti teratogeni, evitare l'uso durante la lattazione perché può ritrovarsi nel latte materno.

Infine, un effetto collaterale negli equini è la laminite che può insorgere dopo il trattamento con glucocorticoidi a causa della presenza di una preesistente condizione nell'interfaccia lamellare del dito che potrebbe essere esacerbata dai glucocorticoidi.

Evidenze sperimentali hanno documentato (Johnson et al., 2002) che un trattamento con glucocorticoidi per molti mesi, porta a dei cambiamenti strutturali che indeboliscono l'unione zoccolo-terza falange predisponendo alla laminite per altre cause tradizionali. In cavalli che hanno già un indebolimento laminare, la terapia con glucocorticoidi potrebbe precipitare nella laminite in tempo relativamente breve, facendo pensare che la laminite fosse dovuta al recente trattamento (Johnson et al., 2004; Welsh et al., 2017).

Il *prednisolone sodio succinato* è anche utile nel trattamento delle reazioni acute di ipersensibilità, dermatiti atopiche e da contatto, eczema solare e congiuntivite. Negli animali con gravi infezioni preponderanti (in combinazione con antibiotici) e nella prevenzione e trattamento dell'insufficienza adrenale e nello shock (Papich, 2016).

Per quando riguarda il *metilprednisolone acetato* è stato evidenziato che la somministrazione di una singola dose si accompagna ad una permanenza nel liquido sinoviale fino a 77 giorni, mentre le concentrazioni ematiche permangono per 14 giorni (Machin et al., 2019).

Tuttavia, numerosi studi hanno dimostrato i potenziali effetti dannosi dei corticosteroidi sulla composizione e sulla morfologia della cartilagine articolare, mentre sono noti gli effetti negativi correlati al tipo e alla dose di corticosteroidi utilizzati, alla frequenza della somministrazione ripetuta e al carico articolare a seguito della somministrazione, ciò implica un utilizzo moderato e con giudizio di questi farmaci.

BIBLIOGRAFIA

- Abass B., Al-Hyani O. and Al-Jobory A. Anesthesia in xylazine premedicated donkeys with ketamine and ketamine-propofol mixture: a comparative study. *Iraqi J. Vet. Sci*, 21: 117-123, 2007.
- Adcock I.M. and Mumby S. Glucocorticoids. *Handb. Exp. Pharmacol.*, 237: 171-196, 2017.
- Aguilar-Zapata D., Petraitiene R. and Petraitis V. Echinocandins: the expanding antifungal armamentarium. *Clinical Infectious Diseases*, 61: 604-611, 2015.
- Ahmadpour E., Godrati-Azar Z., Spotin A., Norouzi R., Hamishehkar H., Nami S., Heydarian P., Rajabi S., Mohammadi M. and Perez-Cordon G. Nanostructured lipid carriers of ivermectin as a novel drug delivery system in hydatidosis. *Parasit Vectors.*, 12(1): 469, 2019.
- Alout H. and Foy B.D. Ivermectin: a complimentary weapon against the spread of malaria? *Expert Rev. Anti. Infect. Ther.*, 15(3): 231-240, 2017.
- Amery W.K. and Bruynseels J.P. Levamisole, the story and the lessons. *Int. J. Immunopharmacol.*, 14: 481-486, 1992.
- Annunziato L. and Di Renzo G.F. *Trattato di Farmacologia*. Idelson-Gnocchi, Napoli, 2016.
- Badino P. and Re G. *Farmacologia Veterinaria*. Idelson-Gnocchi, Napoli, 20019.
- Bassetti M. *Chemioterapici antinfettivi e loro impiego razionale*. Milano, Accademy S.r.l., 2010.
- Belloli C. and Zizzadoro C. Vascular dysfunction and inflammation in laminitis: modifying blood flow through the equine digit. *Vet. J.*, 186(1): 8-9, 2010.
- Bennett J., Jorge F., Poulin R. and Randhawa H. Revealing trophic transmission pathways of marine tapeworms. *Parasitol. Res.*, 118(5): 1435-1444, 2019.
- Berzina I., Trumble N.S., Novicki T. and Sharkey L.C. Subconjunctival mycetoma caused by *Scedosporium apiospermum* infection in a horse. *Vet. Clin. Pathol.*, 40(1): 84-8, 2011.
- Bing Q., Wang L., Li D. and Wang G. A new high selective and sensitive turn-on fluorescent and ratiometric absorption chemosensor for Cu²⁺ based on benzimidazole in aqueous solution and its application in live cell. *Spectrochim. Acta A. Mol. Biomol. Spectrosc.*, 5, 202: 305-313, 2018.
- Bistrović A., Krstulović L., Stolić I., Drenjančević D., Talapko J., Taylor M.C., Kelly J.M., Bajić M. and Raić-Malić S. Synthesis, anti-bacterial and anti-protozoal activities of amidinobenzimidazole derivatives and their interactions with DNA and RNA. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, 33(1): 1323-1334, 2018.
- Błaszczak-Świątkiewicz K., Sikora J., Szymański J., Danilewicz M. and Mikiciuk-Olasik E. Biological evaluation of the toxicity and the cell cycle interruption by some benzimidazole derivatives. *Tumor Biol.*, 37: 11135-11145, 2016.
- Bloomquist J.R. Chloride channels as tools for developing selective insecticides. *Arch. Insect. Biochem. Physiol.*, 54: 145-156, 2003.
- Bond S.L., Greco-Otto P., MacLeod J., Galezowski A., Bayly W. and Léguillette R. Efficacy of dexamethasone, salbutamol, and reduced respirable particulate concentration on aerobic capacity in horses with smoke-induced mild asthma. *J. Vet. Intern. Med.*, 34(2): 979-985, 2020.

- Brooks D.E., Taylor D.P., Plummer C.E., Quinn R., Kallberg M.E., Sheppard B., Barrie K.P., Blackwood S.E., Nunnery C.M., Ben-Shlomo G., Clark C.J. and Woodworth A.A. Iris abscesses with and without intralenticular fungal invasion in the horse. *Vet. Ophthalmol.*, 12(5): 306-12, 2009.
- Brooks D.E., Plummer C.E., Mangan B.G. and Ben-Shlomo G. Equine subepithelial keratomycosis. *Vet. Ophthalmol.*, 16(2): 93-6, 2013.
- Buckingham S.D., Ihara M., Sattelle D.B. and Matsuda K. Mechanisms of Action, Resistance and Toxicity of Insecticides Targeting GABA Receptors. *Curr. Med. Chem.*, 24(27): 2935-2945, 2017.
- Burden F., Du Toit N. and Thiemann A. Nutrition and dental care of donkeys. *Practice*, 35: 405-410, 2013.
- Burden F.A., Hazell-Smith E. and Mulugeta G. Reference intervals for biochemical and haematological parameters in mature domestic donkeys (*Equus asinus*) in the UK. *Equine Vet. Educ.*, 28(3): 134-139, 2016.
- Burn R.C.E., Pritchard J.C. and Barr A.R.S. The range and prevalence of clinical signs and conformation associated with lameness in working draught donkeys in Pakistan. *Equine Vet. J.*, 46(6): 771-777, 2014.
- Cain D.W. and Cidlowski J.A. Immune regulation by glucocorticoids. *Nat. Rev. Immunol.*, 17(4): 233-247, 2017.
- Cowan N., Meier C., Neodo A. and Keiser J. Exposure of *Heligmosomoides polygyrus* and *Trichuris muris* to albendazole, mebendazole, mebendazole and oxantel pamoate *in vitro* and *in vivo* to elucidate the pathway of drug entry into these gastrointestinal nematodes. *Int. J. Parasitol. Drugs Resist.*, 7(2): 159-173, 2017.
- Cunsolo V., Saletti R., Muccilli V., Gallina S., Di Francesco A. and Foti S. Proteins and bioactive peptides from donkey milk: The molecular basis for its reduced allergenic properties. *Food Research International*, 99: 41-57, 2017.
- Das B., Dash S., Chandra C. R. and Chakraborty J. Synergistic immunostimulatory activity of *Terminalia bellerica* gum polysaccharide with levamisole. *World. J. Pharm. Pharm. Sci. (WJPPS)*, 3: 1367-1384, 2014.
- Davis J.L., Salmon J.H. and Papich M.G. Pharmacokinetics and tissue distribution of itraconazole after oral and intravenous administration to horses. *Am. J. Vet. Res.*, 66(10): 1694-701, 2005.
- Davis J.L., Salmon J.H. and Papich M.G. Pharmacokinetics of voriconazole after oral and intravenous administration to horses. *Am. J. Vet. Res.*, 67(6): 1070-5, 2006.
- Demeler J., Krüger N., Krücken J., von der Heyden V.C., Ramünke S. and Küttler U. Phylogenetic characterization of β -tubulins and development of pyrosequencing assays for benzimidazole resistance in cattle nematodes. *PLoS One*, 8: 70212, 2013.
- Douglas C. Fungal beta (1,3)-D-glucan synthesis. *Med Mycol*, 39: 1-8, 2001.
- Drudge J.H., Lyons E.T. and Tolliver S.C. Parasite control in horses - a summary of contemporary drugs. *Vet. Med. Small Anim. Clin.*, 76: 1479-1489, 1981.
- Du Toit N., Gallagher J. and Burden F.A. Post mortem survey of dental disorders in 349 donkeys from an aged population (2005-2006). Part 1: prevalence of specific dental disorders. *Equine Vet. J.*, 40: 204-208, 2008.
- Du Toit N., Burden F.A. and Dixon P.M. Clinical dental examinations of 357 donkeys in the UK. Part 1: prevalence of dental disorders. *Equine Vet. J.*, 41: 390-394, 2009.
- Du Toit N. and Dixon P.M. Common dental disorders in the donkey. *Equine Vet. Educ.*, 24: 45-51, 2012.
- Elad D. Therapy of Non-Dermatophytic Mycoses in Animals. *J. Fungi (Basel)*. 30:4(4), 2018.

- Emami M., Seifi H. and Tavakoli Z. Effects of totally intravenous thiopental anesthesia on cardiopulmonary and thermoregulatory system in donkeys. *J. Appl. Anim. Res.*, 29: 13-16, 2006.
- Ekstrand C., Bondesson U., Giving E., Hedeland M., Ingvast-Larsson C., Jacobsen S., Löfgren M., Moen L., Rhodin M., Saetra T. and Ranheim B. Disposition and effect of intra-articularly administered dexamethasone on lipopolysaccharide induced equine synovitis. *Acta Vet. Scand.*, 20;61(1): 28, 2019.
- Evans L. and Crane M. *The clinical companion of the donkey*. 1st edition. Leicestershire (UK): Matador 257, 2018.
- Ferguson D.C. and Hoening M. *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. Ed. Adams H.R., Iowa State University Press, Ames, IA, 1995.
- Francesca D., Segati G. and Brascic M. Effects of management practices on the welfare of dairy donkeys and risk factors associated with signs of hoof neglect. *J. Dairy Res.*, 85(1): 30-38, 2018.
- Gaignage P., Lognag G., Bosson D., Vertongen D., Dreze P., Marlier M. and Severin M. Dexamethasone bovine pharmacokinetics. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 16: 219-221, 1991.
- Galera P.D. and Brooks D.E. Optimal management of equine keratomycosis. *Vet. Med. (Auckl)*, 3:7-17, 2012.
- Ghouri A. and Conaghan P.G. Update on novel pharmacological therapies for osteoarthritis. *Ther. Adv. Musculoskelet. Dis.*, 11: 1-11, 2019.
- Goodman and Gilman. *Le basi farmacologiche della terapia*. Bologna, Zanichelli, 2019.
- Gokbulut C. and McKellar Q.A. Anthelmintic drugs used in equine species. *Veterinary Parasitology*, 261: 27-52, 2018.
- Gokbulut C., Aksit D., Smaldone G., Mariani U. and Veneziano V. Plasma pharmacokinetics, faecal excretion and efficacy of pyrantel pamoate paste and granule formulations following per os administration in donkeys naturally infected with intestinal strongylidae. *Vet. Parasitol.*, 15, 205(1-2): 186-92, 2018.
- Grosenbaugh D.A., Reinemeyer C.R. and Figueiredo M.D. Pharmacology and therapeutics in donkeys. *Equine Vet. Educ.*, 23: 523-530, 2011.
- Gupta M. Levamisole: a multi-faceted drug in dermatology. *Indian J. Dermatol. Venereol. Leprol.*, 82, 230, 2016.
- Gupta R.C., Lall R., Srivastava A. and Sinha A. Hyaluronic Acid: Molecular Mechanisms and Therapeutic Trajectory. *Front. Vet. Sci.*, 6: 1-24, 2019.
- Hart K.A., Flaminio M.J., LeRoy B.E., Williams C.O., Dietrich U.M. and Barton M.H. Successful resolution of cryptococcal meningitis and optic neuritis in an adult horse with oral fluconazole. *J. Vet. Intern. Med.*, 22(6):1436-40, 2008.
- Houšť J., Spížek J. and Havlíček V. Antifungal Drugs. *Metabolites*, 12: 10(3), 2020.
- Kaminsky R., Ducray P., Jung M., Clover R., Rufener L., Bouvier J., Weber S.S., Wenger A., Wieland-Berghausen S., Goebel T., Gauvry N., Pautrat F., Skripsky T., Froelich O., Komoin-Oka C., Westlund B., Sluder A. and Mäser P. A new class of anthelmintics effective against drug-resistant nematodes. *Nature*, 13, 452(7184): 176-180, 2008.
- Kaplan R.M. and Vidyashankar A.N. An inconvenient truth: global worming and anthelmintic resistance. *Vet. Parasitol.*, 186 (1-2): 70-78, 2012.
- Karatosidi D., Marsico G. and Tarricone S. Modern use of Donkeys. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 3(1): 13-17, 2013.
- Kiki-Mvouaka S., Ménez C., Borin C., Lyazrhi F., Foucaud-Vignault M., Dupuy J., Collet X., Alvinerie M. and Lespine A. Role of P-Glycoprotein in the Disposition of Macrocytic Lactones: A Comparison between Ivermectin, Eprinomectin, and Moxidectin in Mice. *Drug Metabolism and Disposition*, 38 (4): 573-580, 2010.

- Kim T-W., Della Rocca G. and Di Salvo A. Pharmacokinetics of the novel cyclooxygenase 2 inhibitor cimicoxib in donkeys. *J. Equine Vet. Sci.*, 34: 923-925, 2014.
- Klier J., Bartl C., Geuder S., Geh K.J., Reese S., Goehring L.S., Winter G. and Gehlen H. Immunomodulatory asthma therapy in the equine animal model: A dose-response study and evaluation of a long-term effect. *Immun Inflamm Dis.* 2019 Sep;7(3):130-149. doi: 10.1002/iid3.252. Epub 2019 May 29.
- Koerner J.C., George M.J., Meyer D.R., Rosco M.G. and Habib M.M. Povidone-iodine concentration and dosing in cataract surgery. *Surv. Ophthalmol.*, 63(6): 862-868, 2018.
- Knych H.K. Nonsteroidal Anti-inflammatory Drug Use in Horses. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 33(1): 1-15, 2016.
- Knych H.K., Stanley S.D., Harrison L.M. and Mckemie D.S. Pharmacokinetics of betamethasone in plasma, urine, and synovial fluid following intra-articular administration to exercised thoroughbred horses. *Drug Test Anal.*, 9(9): 1385-1391, 2017.
- Kumar S., Kumar R. and Sugimoto C. A prospective on Theileria equi in donkeys. *Jap. J. Vet. Res.*, 56(4): 171-180, 2009.
- Kumar A., Dhir V., Sharma S., Sharma A. and Singh S. Efficacy of methylprednisolone acetate versus triamcinolone acetonide intra-articular knee injection in patients with chronic inflammatory arthritis: a 24-week randomized controlled trial. *Clin. Ther.*, 39(1): 150-8, 2017.
- Lanusse C.E. and Prichard R.K. Relationship between pharmacological properties and clinical efficacy of ruminant anthelmintics. *Vet. Parasitol.*, 49: 123-158, 1993.
- Laurent L. Couetil, Art T., de Moffarts B., Becker M., Melotte D., Jaspard F., Bureau F. and Lekeux P. Effect of Beclomethasone Dipropionate and Dexamethasone Isonicotinate on Lung Function, Bronchoalveolar Lavage Fluid Cytology, and Transcription Factor Expression in Airways of Horses with Recurrent Airway Obstruction. *J. Vet. Intern. Med.*, 20: 399-406, 2006.
- Ledbetter E.C., Patten V.H., Scarlett J.M. and Vermeylen F.M. *In vitro* susceptibility patterns of fungi associated with keratomycosis in horses of the northeastern United States: 68 cases (1987-2006). *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 231(7):1086-91, 2007.
- Ledbetter E.C. Antifungal Therapy in Equine Ocular Mycotic Infections. *Vet. Clin. North Am. Equine. Pract.*, 33(3):583-605, 2017.
- Lifschitz A., Lanusse C. and Alvarez L. Host pharmacokinetics and drug accumulation of anthelmintics within target helminth parasites of ruminants. *N. Z. Vet. J.*, 65(4), 176-184, 2017.
- Lomonte A.B., de Moraes M.G., de Carvalho L.O. and Zerbini CA. Efficacy of triamcinolone hexacetonide versus methylprednisolone acetate intraarticular injections in knee osteoarthritis: a randomized, double-blinded, 24-week study. *J. Rheumatol.*, 42(9): 1677-84, 2015
- Lyons E.T. and Tolliver S.C. Macrocyclic lactones for parasite control in equids. *Curr. Pharm. Biotechnol.*, 13(6): 1070-1077, 2012.
- Machin J., Duer W., Maylin G., Fenger C., Wilson D., Ivey M., Berthold B., Allison S. and Tobin T. Variability in plasma concentrations of methylprednisolone 6 days after intrasynovial injection of methylprednisolone acetate in racing horses: A field study. *Equine Vet. J.*, 51(3): 343-348 2019.
- Martin R.J., Robertson A.P. and Bjorn H. Target sites of anthelmintics. *Parasitology*, 114 (Suppl): S111-124, 1997.
- Martin R.J. and Robertson A.P. Mode of action of levamisole and pyrantel, Anthelmintic Resistance, E153 and Q57. *Parasitol.*, 134: 1093-1104, 2007.

- Mathes R.L., Reber A.J., Hurley D.J. and Dietrich U.M. Effects of antifungal drugs and delivery vehicles on morphology and proliferation of equine corneal keratocytes in vitro. *Am. J. Vet. Res.*, 71(8): 953-9, 2010.
- Matthews N.S., Taylor T. and Hartsfield S. Anaesthesia of donkeys and mules. *Equine Vet. Educ.*, 7: 102-107, 2005.
- Matthews N.S., Grosenbaugh D.A. and Kvaternick V. Pharmacokinetics and oral bioavailability of firocoxib in donkeys. In: 10th World Congress of Veterinary Anaesthesia, Glasgow, UK, August 31-September 4, 2009. p. 13.
- Matthews N.S., Peck K.E. and Taylor T.S. Pharmacokinetics of phenylbutazone and its metabolite oxyphenbutazone in miniature donkeys. *Am. J. Vet. Res.*, 62: 673-675, 2001.
- Matthews J.N. and Burden F.A. Common helminth infections of donkeys and their control in temperate regions. *Equine Vet. Educ.*, 25: 461-467, 2013.
- McIlwraith C.W. and Lattermann C. Intra-articular Corticosteroids for Knee Pain-What Have We Learned from the Equine Athlete and Current Best Practice. *J. Knee Surg.*, 32(1):9-25, 2019.
- Mealey K.L., Matthews N.S. and Peck K.E. Comparative pharmacokinetics of phenylbutazone and its metabolite oxyphenbutazone in clinically normal horses and donkeys. *Am. J. Vet. Res.*, 58: 53-55, 1997.
- Mealey K.L. Canine ABCB1 and macrocyclic lactones: Heartworm prevention and pharmacogenetics. *Veterinary Parasitology*, 158: 215-222, 2008.
- Meekins J.M., Guess S.C. and Rankin A.J. Retinopathy associated with ivermectin toxicosis in five cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 246 (11): 1238-1241, 2015.
- Mendoza F.J., Estepa J.C., and Gonzalez-De Cara C.A. Energy-related parameters and their association with age, gender, and morphometric measurements in healthy donkeys. *Vet. J.*, 204: 201-207, 2015.
- Merola V.M. and Eubic P.A. Toxicology of Avermectins and Milbemycins (Macrocyclic Lactones) and the Role of P-Glycoprotein in Dogs and Cats. *Vet. Clin. Small Anim.* 48: 991-1012, 2018.
- Morrow L.D., Smith K.C. and Piercy R.J. Retrospective analysis of post-mortem findings in 1,444 aged donkeys. *J. Comp. Pathol.*, 144(2-3): 145-156, 2011.
- Mozaffari A.A., Derakhshanfar A. and Alinejad A. A comparative study on the adverse effects of flunixin, ketoprofen and phenylbutazone in miniature donkeys: haematological, biochemical and pathological findings. *N. Z. Vet. J.*, 58: 224-228, 2010.
- Nielsen M.K., Donoghue E.M., Stephens M.L., Stowe C.J., Donecker J.M. and Fenger C.K. An ultrasonographic scoring method for transabdominal monitoring of ascarid burdens in foals. *Equine Veterinary Journal.*, 48(3): 380-386, 2015.
- Papich M.G. Prednisolone Sodium Succinate. In *Saunders Handbook of Veterinary Drugs (Fourth Edition)*, 2016.
- Pasay C.J., Yakob L., Meredith H.R., Stewart R., Mills P.C., Dekkers M.H., Ong O., Llewellyn S., Hugo R.L.E., McCarthy J.S. and Devine G.J. Treatment of pigs with endectocides as a complementary tool for combating malaria transmission by *Anopheles farauti* (s.s.) in Papua New Guinea. *Parasit. Vectors*, 12(1): 124, 2019.
- Patil A. and Majumdar S. Echinocandins in antifungal pharmacotherapy. *J. Pharm. Pharmacol.*, 69(12): 1635-1660, 2017.
- Patil A. and Majumdar S. Echinocandins in antifungal pharmacotherapy. *J. Ocul. Pharmacol. Ther.*, 33(5): 340-352, 2017.
- Pianalto K. M. and Alspaugh J. A. New Horizons in Antifungal Therapy. *Journal of Fungi*, 2 (4), 20116.

- Prasad R., Shah A.H. and Rawal M.K. Antifungals: mechanism of action and drug resistance. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 892: 327-49, 2016.
- Prchal L., Vokral I., Kasny M., Rejskova L., Zajíčková M., Lamka J., Skálová L., Lecová L. and Szotáková B. Metabolism of drugs and other xenobiotics in giant liver fluke (*Fascioloides magna*). *Xenobiotica*, 46(2): 132-140, 2016.
- Pritchard J.C., Lindberg A.C., Main D.C.J and Whay H.R. Assessment of the welfare of working horses, mules and donkeys, using health and behaviour parameters. *Prev. Vet. Med.*, 69: 265-283, 2005.
- Raeymaekers A.H., Roevens L.F. and Janssen P.A. The absolute configurations of the optical isomers of the broad spectrum anthelmintic tetramisole. *Tetrahedron Lett.*, 16: 1467-1470, 1967.
- Rodrigues J.B., Dixon P.M. and Bastos E. A clinical survey on the prevalence and types of cheek teeth disorders present in 400 Zamorano-Leone's and 400 Mirandês donkeys (*Equus asinus*). *Vet. Rec.*, 173(23): 581, 2013.
- Saadi A., Tavassoli M., Dalir-Naghadeh B. and Samiei A. A survey of *Dictyocaulus arnfieldi* (Nematoda) infections in equids in Urmia region, Iran. *Annals of Parasitology*, 64(3): 235-240, 2018.
- Sahay P., Singhal D., Nagpal R., Maharana P.K., Farid M., Gelman R., Sinha R., Agarwal T., Titiyal J.S. and Sharma N. Pharmacologic therapy of mycotic keratitis. *Surv. Ophthalmol.* 64(3): 380-400, 2019.
- Saumell C., Lifschitz A., Baroni R., Fusé L., Bistoletti M., Sagües F., Bruno S., Alvarez G., Lanusse C. and Alvarez L. The route of administration drastically affects ivermectin activity against small strongyles in horses. *Vet. Parasitol.*, 236: 62-67, 2017.
- Scotty Nicole C., Tim J., Evans Elizabeth Giuliano, Johnson Philip J., Rottinghaus George E., Fothergill Annette W. and Cutler J. *In Vitro* Efficacy of Lufenuron against Filamentous Fungi and Blood Concentrations after PO Administration in Horses. *J. Vet. Intern. Med.*, 19: 878-882, 2005.
- Seddighi R. and Doherty T. Anesthesia of the geriatric equine. *Vet. Med. Res. Rep.*, 3: 53-64, 2012.
- Sheehan, D., Sheehan, S. and Marchiondo, A. Discovery and Chemistry of Pyrantel, Morantel and Oxantel Pyrantel Parasiticide Therapy in Humans and Domestic Animals. *Veterinary Parasitology*, 261: 27-52, 2016.
- Seyedmousavi S., Bosco S.M.G., de Hoog S., Ebel F., Elad D., Gomes R.R., Jacobsen I.D., Jensen H.E., Martel A., Mignon B., Pasmans F., Piecková E., Rodrigues A.M., Singh K., Vicente V.A., Wibbelt G., Wiederhold N.P. and Guillot J. Fungal infections in animals: a patchwork of different situations. *Med. Mycol.*, 56(suppl_1): 165-187, 2018.
- Silvinato A. and Wanderley M. B. Inflammatory arthritis or osteoarthritis of the knee - Efficacy of intra-joint infiltration of methylprednisolone acetate versus triamcinolone acetonide or triamcinolone hexacetonide. *Rev. Assoc. Med. Bras.*, 63(10): 827-836, 2017.
- Sivapriya R. and Cidlowski John A. Corticosteroids-Mechanisms of Action in Health and Disease. *Rheum. Dis. Clin. North Am.*, 42(1): 15-31, 2016.
- Stasiuk S.J., MacNevin G., Workentine M.L., Gray D., Redman E., Bartley D., Morrison A., Sharma N., Colwell D., Ro D.K. and Gilleard J.S. Similarities and differences in the biotransformation and transcriptomic responses of *Caenorhabditis elegans* and *Haemonchus contortus* to five different benzimidazole drugs. *Int. J. Parasitol. Drugs Drug Resist.*, 11: 13-29, 2019.
- Stone E.A., Fung H.B. and Kirschenbaum H.L. Caspofungin: an echinocandin antifungal agent. *Clinical Therapeutics*, 24: 351-377, 2002.

- Tainturier D., Alvinerie M., Brandon R. and Toutain P. Dexamethasone concentrations in bovine blood plasma and milk after intravenous injection. *Journal of Dairy Science*, 65: 1921-1924, 1982.
- Taylor E., Baetge C. and Matthews N. Guaifenesin-ketamine-xylazine infusions to provide anesthesia in donkeys. *J. Equine Vet. Sci.*, 28: 295-300, 2008.
- Tellse L., Burde F.A. and Wall R. Control of the chewing louse *Bovicola (Werneckiella) ocellatus* in donkey using oil. *Med. Vet. Entomol.*, 27: 408-413, 2013.
- Thiemann A., Barrio Fernandez E. and Rickards K. Assessing quality of life and welfare of donkeys in the UK. *Clinical Practice*, 40: 249-257, 2018.
- Toscan G., Cezar A.S., Pereira R.C., Silva G.B., Sangioni L.A., Oliveira L.S. and Vogel F.S. Comparative performance of macrocyclic lactones against large strongyles in horses. *Parasitol. Int.*, 61(4): 550-553, 2012.
- Toutain P., Brandon R., Alvinerie M., Garcia-Villar R. and Ruckebusch Y. Dexamethasone in cattle: pharmacokinetics and action on the adrenal gland. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 5: 33-43, 1982.
- Traumüller F., Popovic M., Konz K.H., Smolle-Juttner F.M. and Joukhadar C. Efficacy and Safety of Current drug therapies for Invasive Aspergillosis. *Pharmacology*, 88: 213-224, 2011.
- Tsiboukis D., Sazakli E., Jelastopulu E. and Leotsinidis M. Anthelmintics residues in raw milk. Assessing intake by a children population. *Pol. J. Vet. Sci.*, 6(1): 85-91, 2013.
- Vandewalle J., Luypaert A., De Bosscher K. and Libert C. Therapeutic Mechanisms of Glucocorticoids. *Trends Endocrinol. Metab.*, 29(1):42-54, 2018.
- van Dierendonck M.C., Burden F.A., Rickards K. and van Loon J. P.A.M. Monitoring Acute Pain in Donkeys with the Equine Utrecht University Scale for Donkeys Composite Pain Assessment (EQUUS-DONKEY-COMPASS) and the Equine Utrecht University Scale for Donkey Facial Assessment of Pain (EQUUS-DONKEY-FAP). *Animals*, 10: 354, 2020.
- Van Loon J.P. and van Dierendonck M.C. Monitoring acute equine visceral pain with the Equine Utrecht University Scale for Composite Pain Assessment (EQUUS-COMPASS) and the Equine Utrecht University Scale for Facial Assessment of Pain (EQUUS-FAP): A scale-construction study. *Vet. J.*, 206: 356-364, 2015.
- Van Loon J.P. and van Dierendonck M.C. Monitoring equine head-related pain with the Equine Utrecht University scale for facial assessment of pain (EQUUS-FAP). *Vet. J.*, 220: 88-90, 2017.
- Veneziano V., Di Loria A., Masucci R., Di Palo R., Brianti E. and Gokbulut C. Efficacy of eprinomectin pour-on against *Dictyocaulus arnfieldi* infection in donkeys (*Equus asinus*). *Vet. J.*, 190: 414-415, 2011.
- Verhaar N., Hermans H., van Rooij E., van Oldruitenborgh-Oosterbaan M.S. and Ensink J. Case series: periocular habronemiasis in five horses in the Netherlands. *Vet. Rec.*, 182(26): 746, 2018.
- Vermes A., Guchelaar H.J. and Dankert J. Flucytosine: a review of its pharmacology, clinical indications, pharmacokinetics, toxicity and drug interactions. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 46: 171-179, 2000.
- Vincenti M., Girolami F., Capra P., Pazzi M., Carletti M., Gardini G. and Nebbia C. Study of dexamethasone urinary excretion profile in cattle by LC-MS/MS: comparison between therapeutic and growth-promoting administration. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57: 1299-1306, 2009.
- Virkel G., Lifschitz A., Sallovitz J., Ballent M., Scarcella S. and Lanusse C. Inhibition of cytochrome P450 activity enhances the systemic availability of triclabendazole metabolites in sheep. *J. Vet. Pharmacol. Ther.*, 32(1): 79-86, 2009.

- Welsh C.E., Duz M., Parkin T.D.H. and Marshall J.F. Disease and pharmacologic risk factors for first and subsequent episodes of equine laminitis: A cohort study of free-text electronic medical records. *Prev. Vet. Med.*, 136:11-18, 2017.
- Wiederhold N.P. The antifungal arsenal: alternative drugs and future targets. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 51(3): 333-339, 2018.
- Williams M.M., Davis E.G. and Kukanich B. Pharmacokinetics of oral terbinafine in horses and Greyhound dogs. *J. Vet. Pharmacol. Ther.*, 34(3):232-7, 2011.
- Younkin T.J., Davis E.G., Kukanich B. Pharmacokinetics of oral terbinafine in adult horses. *J. Vet. Pharmacol. Ther.*, 40(4): 342-347, 2017.
- Zhu M. and Weng Q. China: will the donkey become the next pangolin? *Equine Vet. J.*, 50(2): 276, 2018.

sezione 2

PRODUZIONE DEL LATTE



FISIOLOGIA ED ETOLOGIA DELL'ASINA DA LATTE

MICHELE PANZERA

Dipartimento di Scienze veterinarie – Università degli Studi di Messina

CENNI DI ANATOMIA

La ghiandola mammaria appartiene al tipo delle ghiandole alveolari composte ed apocrine, la cui origine anatomofunzionale è riconducibile alle ghiandole sudoripare. Il suo volume determina un rilievo più o meno vistoso del rivestimento cutaneo, denominato *mammella*, che ha forma e topografia diversa a seconda delle specie.

Ciascuna mammella è sormontata da un prolungamento cilindroide, *capezzolo*, la cui estremità libera è perforata da uno o più *osti papillari* o *pori lattiferi*, che rappresentano gli sbocchi dei canali escretori o *dotti lattiferi*.

Nell'asina, così come nella cavalla, si riscontrano due mammelle che occupano la parte caudale della regione ipogastrica con due osti papillari per capezzolo. L'unità morfofunzionale della ghiandola è l'*alveolo mammario* luogo di sintesi del latte; gli alveoli si riuniscono a gruppi per costituire i *lobuli*, mentre i dotti escretori degli alveoli o *condotti galattofori* si distinguono in intralobulari e interlobulari.

Nei Ruminanti i dotti galattofori interlobulari, nel mentre discendono dal parenchima mammario, si fondono con quelli attigui aumentando gradatamente di dimensioni e riducendosi di numero andando a sfociare in una parte dilatata alla base del capezzolo, la *cisterna del latte* o seno lattifero. Caratteristicamente negli equidi i dotti galattofori interlobulari non sfociano nella cisterna del latte ma si aprono direttamente in una piccola cavità denominata *cisterna del capezzolo* o seno lattifero. Infatti dai due pori lattiferi di ciascun capezzolo ascende un corto canale papillare, lungo circa 5-7 mm, che immette nel seno lattifero che occupa la maggior parte del capezzolo. Durante l'allattamento il capezzolo acquista una lunghezza di 3-5 cm e 5 cm di larghezza alla base; in pratica la mammella in lattazione degli equidi è caratterizzata da una intumescenza a forma di coppa tra il parenchima mammario vero e proprio ed il sito di insorgenza del capezzolo. La quantità di latte contenuta nella cisterna capezzolare è sensibilmente inferiore a quella alveolare ed ammonterebbe a circa 60 ml.

L'alveolo mammario, costituito da cellule secernenti, è circondato da cellule mioepiteliali, presenti anche attorno ai dotti galattofori, che si ramificano e avvolgono come un canestro l'alveolo stesso. La funzione delle cellule mioepiteliali è quella di favorire la progressione del secreto mammario dall'area di sintesi a quella di stoccaggio, mentre a livello dei pori lattiferi la muscolatura liscia è disposta circolarmente per formare lo *sfintere della papilla*.

A livello della papilla sono presenti fitti plessi nervosi e numerosi corpuscoli tattili (corpuscoli di Meissner e dischi di Merkel) la cui stimolazione, durante la poppata o la mungitura, provoca la liberazione per via riflessa di un ormone ipofisario (ossitocina) che favorisce l'eiezione latte.

ELEMENTI DI FISIOLOGIA DELLA LATTAZIONE

La fisiologia della ghiandola mammaria dell'asina può essere schematicamente rappresentata attraverso i seguenti stadi funzionali:

- *mammogenesi*: crescita e sviluppo strutturale;
- *lattogenesi*: differenziazione funzionale e avvio della sintesi del latte;
- *galattopoiesi*: mantenimento dell'attività secretiva del latte.

Ciascuna di queste tre fasi è controllata da un'intensa e complessa attività ormonale.

Mammogenesi

All'avvento della pubertà la crescita della mammella è di tipo allometrico ed al suo sviluppo e maturazione morfounzionale partecipano numerosi ormoni, di origine ovarica e non, denominati nel loro insieme con il termine di *ormoni masteoplastici*.

Ad ogni ciclo estrale, gli estrogeni ovarici prodotti dal follicolo inducono essenzialmente lo sviluppo e la proliferazione dei dotti, mentre l'azione del progesterone stimola la formazione delle strutture lobulo-alveolari. Tali effetti risultano mediati da recettori per entrambi gli ormoni ovarici sia nelle cellule alveolari, sia nello stroma ghiandolare.

Durante la gravidanza le cellule alveolari non rispondono più al progesterone e ciò rende possibile il completamento della fase differenziativa della cellula alveolare per permettere l'avvio della fase secretiva. Unitamente agli ormoni steroidei ovarici, alcuni ormoni prodotti dall'ipofisi sono responsabili dello sviluppo e della differenziazione della ghiandola mammaria. La prolattina (PRL), ad esempio, attraverso specifici recettori della membrana epiteliale mammaria, partecipa alla differenziazione dei dotti ed alla capacità secretiva delle cellule alveolari attraverso un complesso sistema recettoriale chiamato STAT (segnale di trasduzione e attivazione della trascrizione).

Lattogenesi e galattopoiesi

La lattogenesi inizia subito dopo il parto e prosegue con la galattopoiesi in concomitanza con la brusca diminuzione dei livelli ematici di progesterone. Il progesterone, infatti, fino al momento del parto, inibisce la sintesi del latte attraverso il blocco della produzione del lattosio e, in particolare, dell'alfa-lattoalbumina. A ciò si aggiunga che l'elevato tasso progesteronemico gravidico inibisce sia l'attività gonadotropica del distretto ipotalamo-ipofisario, impedendo l'increzione dell'ormone rilasciante le gonadotropine (GnRH) e, di conseguenza, delle gonadotropine (ormone follicolo stimolante – FSH – e ormone luteinizzante – LH), e di PRL da parte dell'adenipofisi.

Al parto, pertanto, l'eliminazione dell'inibizione del progesterone avvia la lattopoiesi e la conseguente galattopoiesi, rammentando che nella descrizione che segue sono stati volontariamente omessi per non appesantire il testo, i riferimenti all'azione di numerosi fattori di crescita (EGF, TGF-alfa e beta, FGF) e della matrice extracellulare (fibronectina, laminina, collagene IV, integrine).

La lattopoiesi e la galattopoiesi sono sotto il controllo della prolattina e dell'ormone dell'accrescimento o somatotropo (GH). Il ruolo della PRL, nelle diverse fasi della lattogenesi, consiste nella modulazione di complessi sistemi recettoriali relativi al numero delle cellule secretorie (fasi I e II della curva di lattazione) ed all'attività secretiva delle cellule (fasi III e IV). L'azione della PRL nel supportare la lattogenesi è essenzialmente rappresentato dal fine controllo delle modificazioni metaboliche di tipo omeoretico di organo e di sistema (cioè aggiustamenti fisiologici coordinati e finalizzati a sostenere una determinata funzione fisiologica) per far fronte all'approvvigionamento mammario dei nobili principi e costituenti il latte e le relative esigenze energetiche, indirizzando e ricollocando risorse dai tessuti di deposito. La PRL, ad esempio, rappresenta un fattore indispensabile per sbloccare la sintesi delle caseine.

L'azione dell'ormone della crescita o somatotropo (GH) sulla lattogenesi si esplica attraverso la stimolazione degli epatociti ad aumentare la liberazione di IGF-I che, tramite il circo-

lo ematico, raggiunge i recettori presenti sulle cellule alveolari mammarie, mediando l'azione della PRL. A livello centrale il ruolo del GH è rappresentato da fini modulazioni a livello ipotalamico dei centri della fame e della increzione di insulina, glucagone e CCK, regolando i fondamentali metabolismi energetico e carboidratico per la sintesi del latte.

Avviata la lattogenesi, anche la fase successiva della galattopoiesi – espressione della capacità produttiva della ghiandola mammaria – è influenzata dall'attività della PRL e del GH che rappresenta il più importante fattore galattopoietico, soprattutto nei monogastrici. Si ritiene che il somatotropo agisca in modo indiretto e che la sua azione sia mediata da fattori di crescita (somatomedine).

Eiezione lattea

Prodotto e depositato nello stroma della ghiandola mammaria, il latte deve poter essere allontanato dalla ghiandola mammaria. Tale funzione, definita *eiezione lattea*, è resa possibile grazie ad un riflesso neuroendocrino la cui componente afferente è nervosa ed è rappresentata dalle scariche centripete dei meccanocettori capezzolari deformati dalla suzione o dalla mungitura. Gli impulsi nervosi ascendono fino all'ipotalamo dove a livello delle cellule neurosecretrici dei nuclei sopraottico e paraventricolare inducono la increzione nel sistema portale ipotalamo-ipofisario dell'ossitocina.

L'ormone si lega ad una specifica proteina, le neurofisina I, e giunge al sito di stoccaggio a livello della neuroipofisi o ipofisi posteriore. Il complesso ossitocina-neurofisina viene, quindi, immesso nel torrente circolatorio e giunto a livello della ghiandola mammaria si lega a specifici recettori delle cellule mioepiteliali, determinandone la contrazione.

Gli alveoli mammari vengono compressi ed il latte in essi contenuto si immette nei dotti, poi secondo la specie, nella cisterna del latte o nelle cisterne capezzolari, dove risiede non riuscendo a vincere la resistenza opposta dallo sfintere del dotto papillare capezzolare. Tale resistenza viene vinta o dalla suzione o dalla mungitura che, rispettivamente, determinano la compressione del capezzolo o il vuoto in prossimità dell'uscita della papilla capezzolare.

Unitamente al riflesso neuro-ormonale innato, la scarica della componente nervosa afferente può essere condizionata anche da altri stimoli soprattutto visivi e acustici che andranno a sommarsi ed a rinforzare quelli di origine mammaria. Quando, però, gli stimoli di origine corticale sono negativi, i centri ipotalamici possono risultare inibiti alla scarica di ossitocina.

La particolarità della componente nervosa afferente della scarica di ossitocina risiede soprattutto nel fatto che situazioni ambientali avverse, contesti infrastrutturali carenti o l'effetto *stockman*, possono indurre risposte emozionali negative (paura, diffidenza, allerta) con un aumento dell'attività tonica vegetativa del sistema nervoso simpatico con effetti inibitori sull'espulsione del latte. Ambienti e attività stressanti, inducendo un aumento delle catecolamine circolanti, provocano la riduzione della liberazione di ossitocina. Per tale motivo spesso si osserva che la somministrazione di ossitocina esogena risulta ininfluenza sull'eiezione lattea.

Tale aspetto risulta meritevole di considerazione nel caso delle specie, quale quella asinina, che a causa della mancanza di grossi dotti e della cisterna del latte, necessitano di un efficace riflesso neuro-ormonale.

Unitamente alle peculiarità anatomico-funzionali, l'eiezione lattea nell'asina riconosce ancora quali validi fattori rilascianti l'increzione di ossitocina, l'effetto combinato delle stimolazioni olfattive, visive, acustiche e tattili attraverso la presenza del redo, fondamento dei complessi aspetti che caratterizzano il legame madre-figlio.

È stato dimostrato che nelle specie filogeneticamente più antiche i "circuiti materni" con sede nel sistema limbico sono strettamente connessi a quelli neuro-ormonali di pertinenza ipotalamica e l'elaborazione olfattiva e somatosensoriale materna deve essere rinforzata dalla presenza del piccolo. La sincronizzazione dell'attività di scarica dei neuroni ossitociner-

gici potenzia i fenomeni mnemonici dell'attaccamento materno e fattori disturbanti possono inibire i processi centrali di regolazione e controllo dell'eiezione lattea. Analogamente se le modalità di mungitura, la conformazione dei supporti porta capezzoli, gli intervalli di vuoto positivo e negativo ed i cicli di vuoto non sono adattati alle peculiarità specie-specifiche dell'eiezione lattea, si configurano aspetti di disagio, discomfort e malessere che mal si conciliano con le nobili proprietà del latte d'asina.

Anche le condizioni di management, le caratteristiche infrastrutturali, gli spazi vitali, l'adeguato soddisfacimento dei bisogni etologici, influenzano l'efficacia dei "circuiti materni" e del correlato "circuito dell'eiezione lattea". È stato dimostrato, infatti, nei roditori che i livelli di oppioidi cerebrali, sensibili a condizioni di disadattamento ambientale, regolano l'attività elettrica del nucleo accumbens, fondamentale aggregato neuronale dei circuiti del rinforzo e dell'apprendimento all'attaccamento.

Raccolta del latte

Il latte – prodotto della secrezione degli alveoli della ghiandola mammaria – nell'intervallo temporale fra le poppate o le mungiture si raccoglie nel lume dell'alveolo, nei piccoli e grandi dotti e nelle cisterne del latte negli animali che ne sono provvisti. Se nella mammella dei Ruminanti, prima della mungitura, nell'area degli alveoli e dei piccoli dotti è contenuto il 40% del latte ed il restante 60% è allocato nei grandi dotti e nelle cisterne, nelle specie prive della cisterna del latte come la scrofa, la cavalla e l'asina, esso è prevalentemente distribuito nei dotti.

Dopo ogni poppata o mungitura, nella mammella residua una certa quantità di latte, definito "*latte residuale*", che è stato stimato rappresentare dal 5 al 30% del latte presente nella ghiandola mammaria prima dell'inizio della mungitura. Successivamente alla mungitura la bassa pressione intraalveolare facilita la discesa del latte di nuova formazione nel lume alveolare. Poiché la secrezione lattea è continua, ad un certo punto la pressione intraalveolare supererà la forza di secrezione ed è stata ipotizzata l'esistenza di meccanismi a feed-back chimico o chimico-fisico che riducono l'accesso dei precursori metabolici nelle cellule alveolari. Tra i fattori fisici sono stati ascritti la distensione alveolare che comprimendo i vasi ematici riduce l'approvvigionamento di ossigeno, di precursori e di ormoni, compromettendo la sintesi del latte. È stato dimostrato che l'attività secretoria delle cellule alveolari si annulla quando la pressione endomammaria raggiunge valori pari a 35 mmHg. Nel caso in cui l'entità dello spazio di immagazzinamento è minimo, come negli equidi, le mungiture frequenti garantiranno l'ottimale svuotamento dei dotti a scapito però della quantità di grasso, infatti il latte che può defluire passivamente è soltanto quello contenuto nelle cisterne capezzolari e nei grandi dotti, mentre il latte presente nei piccoli dotti e negli alveoli – più ricco di grasso perché a più basso peso specifico – non lo si può ottenere se non quando si mette in atto il riflesso neuro-ormonale dell'eiezione lattea. Probabilmente per tale ragione negli equidi, unitamente a esigenze comportamentali, la suzione è breve e frequente.

ELEMENTI DI ETOLOGIA VETERINARIA APPLICATA

Tra le specie animali che l'uomo, attraverso il processo di addomesticamento (selezione genetica, attitudini produttive, ambiente di vita), ha plasmato e modificato facendoli nettamente differenziare dai consimili selvatici, la specie asinina – grazie al suo atavico ruolo di animale da lavoro – è rimasta pressoché inalterata.

Per tale motivo le caratteristiche anatomiche e fisiologiche della ghiandola mammaria sono quelle tipiche degli equidi selvatici, influenzando significativamente le strategie comportamentali materne, neonatali e le cure parentali.

Per quanto concerne, invece, il tipo di interazioni sociali, la specie asinina ha sviluppato un sofisticato e complesso linguaggio posturale e mimico-espressivo che regola le complesse gerarchie del gruppo, risultando specie altamente sociale e gregaria.

Ricordiamo che l'asino, rispetto al cavallo, è filogeneticamente più antico, essendosi distaccato dal progenitore comune *Miohippus* nel periodo del Miocene ed ha conservato per lo più integre le caratteristiche di contattabilità, di aggregazione sociale e di mutualismo di specie equine affini quali l'Emione, l'Onagro ed il Quagga.

Recenti indagini sulle caratteristiche comportamentali dell'asino domestico hanno evidenziato, infatti, che le conoscenze sull'etogramma di *Equus caballus* L. non trovano riscontro in quello di *Equus asinus* L., caratterizzato da una distribuzione e organizzazione temporale degli stati comportamentali pressoché inalterata dall'addomesticamento.

Tra le specie predate, *Equus asinus* L. appartiene alle specie cosiddette "precocial", cioè specie nelle quali al parto sono state adattivamente selezionate strategie di sopravvivenza consistenti nell'allontanamento della fattrice dal gruppo familiare per partorire, quanto più possibile, celandosi almeno visivamente ai predatori. Il redo ha tempi di alzata precoci, entro 30 minuti dal parto acquisisce la postura in stazione ed è in grado di seguire la madre essendo già adeguatamente sviluppata la reazione del seguire. Per questo motivo l'asino appartiene alle specie cosiddette "follower", insieme al puledro, al vitello ed alle altre specie predate.

Già dalle prime ore di vita il redo è in grado di discernere gli stimoli tattili, olfattivi, visivi e sonori della madre; il riflesso della suzione è già presente alla nascita e può essere evocato stimolando meccanicamente le sue labbra, così come la complessa e coordinata sequenza motoria che sovrintende la ricerca del capezzolo è tra i primi comportamenti manifestati una volta acquisita la postura in stazione. Successivamente il redo, entro la seconda ora di vita, segue la madre ed entro la terza ora è già in grado di galoppare.

Tali precoci strategie neonatali hanno consentito agli equidi di affermarsi e di sopravvivere alla notevole pressione di innumerevoli specie predatorie.

La distanza che il piccolo mantiene dalla madre è proporzionale all'età, nel senso che il legame madre-puledro si allenta con la crescita.

Nella prima settimana di vita il redo trascorre la maggior parte del tempo nella postura in decubito, soprattutto laterale. Durante l'ontogenesi neonatale (dalla nascita allo svezzamento) diminuisce il tempo dedicato al sonno ed aumenta quello dedicato al gioco ed all'attività pascolativa.

La strategia di allattamento degli equidi è caratterizzata da suzioni brevi (della durata massima di un minuto) e frequenti (circa ogni 15-20 min.), il che oltre che confermare le strategie antipredatorie della specie, evidenzia anche come la fisiologia della mammella si sia adeguatamente adattata.

Un aspetto significativo delle cure parentali nelle specie nidifughe è rappresentato dalle strategie di gestione del legame madre-figlio, soprattutto nei riguardi della protezione e difesa del puledro dagli altri componenti il gruppo.

La protezione del redo si realizza attraverso una rigida prossemica di prossimità. La prossimità è particolarmente intensa quando il redo si trova nella postura in decubito che rappresenta la condizione di potenziale rischio di aggressione.

Inizialmente i nuovi nati si dedicano all'attività pascolativa emulando la madre, dimostrando come anche nello sviluppo e maturazione dei moduli motori del comportamento alimentare, la facilitazione sociale svolge un ruolo importante; il tempo di pascolamento aumenta progressivamente con l'età, raggiungendo il 60-70% del tempo (come gli adulti) entro lo svezzamento naturale.

I giovani redi impegnano la maggior parte del loro tempo nell'attività ludica, essendone riconosciuta la sua importantissima funzione quale fondamentale esercizio fisico per le competizioni sociali che gli animali dovranno sostenere da adulti all'interno del gruppo.

Nelle prime due settimane di vita i redi giocano da soli galoppando intorno alla madre o mordendone le gambe e la criniera; quest'ultimo comportamento si consoliderà in seguito nell'allogrooming (toelettatura reciproca). Successivamente si consolida il gioco sociale, con differenze sessuali ben determinate: i maschi effettuano tentativi ludici di monta e combattimento, mentre le femmine, invece, effettuano gioco motorio ed allogrooming. Con l'avvento della pubertà diminuiscono le attività ludiche in generale e si stabilizza l'attività di pascolamento.

I redi di fattrici subordinate, subiscono un numero di aggressioni maggiori rispetto a quelle senza redo ed il continuo disturbo dei dominanti alle fasi di allattamento può provocare lo svezzamento precoce naturale.

Dopo il primo anno i redi, maschi e femmine, possono lasciare il branco della madre in qualsiasi momento. Solitamente lo svezzamento naturale precede le nuove nascite.

I maschi generalmente lasciano il gruppo natale tra i 2-3 anni d'età; la dispersione può essere volontaria o causata dalla femmina dominante negli asini e dallo stallone nei cavalli.

Le giovani femmine, normalmente, restano nel gruppo natale e partecipano alle cure parentali dei nuovi nati, oppure possono seguire i giovani maschi o sono "rubate" da uno stallone per formare un nuovo gruppo familiare; la dispersione avviene di solito tra i 2-3 anni d'età durante il periodo estrale, mentre se restano nel gruppo natale il loro tasso di riproduzione sarà molto basso.

La facilitazione sociale garantita dalla vita nel gruppo deriva dai comportamenti emulativi della madre o dall'osservazione dei coetanei e degli altri membri del gruppo, solo così i giovani apprendono il comportamento più appropriato per ogni ruolo e contesto.

Le indagini sull'uso del tempo negli equidi ha riguardato prevalentemente il cavallo il quale segue un'organizzazione temporale nictemerale, influenzata da variabili quali la disponibilità di foraggio e la temperatura.

I cavalli sono stati osservati a spendere il 30-70% del loro tempo a pascolare, il 15-50% in stazione (veglia vigile o rilassata), il 4-10% in attività d'esplorazione ed il 2-10% in decubito (laterale o sternale) soprattutto in tarda notte o prima mattina.

Da questo si deduce che un cavallo adulto passa la maggior parte del suo tempo nella postura in stazione, deambulando lentamente durante il pascolo.

Anche la maggior parte del sonno o riposo avviene nella postura in stazione, grazie alla specifica conformazione osteo-legamentosa della struttura biomeccanica degli equidi, che consente di mantenere tale posizione con un dispendio energetico minimo; tuttavia, per il raggiungimento della fase REM del sonno, anche gli equidi necessitano della posizione di decubito laterale.

Come appartenenti a specie nidifughe, gli equidi hanno un sonno REM molto frammentato, caratterizzato da cicli di pochi minuti.

L'alternanza dei periodi di veglia vigile e rilassata e dei periodi di decubito sternocostale e laterale, sono rigidamente governati dalle regole sociali; i primi soggetti ad andare in decubito sono i dominanti e si trovano sempre in posizione centrale rispetto a quelli in stazione o che pascolano, con un'alternanza periodica nel riposo o nella veglia.

È interessante osservare come questi meccanismi si ritrovino anche in cattività, persino all'interno di una scuderia con box singoli, l'unica differenza sta nei tempi d'espressione, che dipenderanno dalle condizioni di stabulazione.

Com'è facile intuire, anche questo comportamento costituisce una strategia di sopravvivenza; l'animale durante le fasi di sonno NREM e REM, perde parzialmente e gradualmente il livello di vigilanza e l'organizzazione mutualistica del gruppo consente la realizzazione ed il soddisfacimento di tale fondamentale fase di ristoro.

L'asino, appartenendo alla Famiglia degli Equini vive, in condizioni naturali o in allevamenti semibradi in gruppi socialmente strutturati composti mediamente da 5-6/10-20 soggetti. Il gruppo sociale asinino è prettamente matriarcale con, di norma, la femmina più anziana quale soggetto alfa e tali associazioni sociali sono chiamate gruppi familiari.

Il gruppo socialmente strutturato è il presupposto di base per l'espletamento delle principali categorie comportamentali dell'etogramma degli asini.

Il soggetto leader sarà diverso in base all'attività: ad esempio il soggetto che coordina gli spostamenti territoriali è di solito una femmina anziana; chi esplora il territorio alla ricerca delle fonti alimentari o idriche sono i soggetti "esploratori" che spesso si trovano nei punti periferici del gruppo e che non assumono, di solito, posizioni di dominanza; chi segnala i pericoli sono i soggetti "sentinella", i più vigili e reattivi; si possono, infine, osservare, i soggetti che regolano i tempi d'abbeverata e di pascolamento ed altri che danno inizio all'attività di gioco.

L'organizzazione gerarchica del gruppo si basa su due sistemi: quello della dominanza e quello dell'associazione.

La dominanza è stata definita come particolare forma di aggressività che comunica il rango, la priorità d'accesso alle risorse e consiste in un modello unidirezionale d'interazione agonistica.

In natura la strutturazione gerarchica del gruppo ne garantisce la compattezza, intesa quale efficace strumento anti-predatorio, in grado di minimizzare i conflitti e promuovere la stabilità. Di conseguenza, l'ordine sociale dei gruppi si stabilisce rapidamente e le aggressioni manifeste sono relativamente rare; in pratica una volta che la gerarchia si è formata, espressioni d'aggressività ritualizzata saranno sufficienti a ristabilire l'ordine e rafforzano i legami, soprattutto in virtù del rispetto della fuga del contendente.

Generalmente il sistema di dominanza si approssima ad una gerarchia lineare: in teoria l'individuo alfa è dominante su tutti, mentre l'individuo omega è sottomesso a tutti, i soggetti intermedi sono a loro volta in posizione dominante su alcuni e sottomessi ad altri. Sono molti i fattori che intervengono nella determinazione della posizione di dominanza del singolo nel gruppo, come l'età, la dimensione corporea, il rango della madre.

Tale rappresentazione è sicuramente valida per i gruppi di piccole dimensioni, tuttavia nei gruppi di maggiori dimensioni è stato osservato che i rapporti gerarchici non sono sempre lineari, anzi spesso sono osservati sistemi di dominanza circolare/triangolare, in cui il soggetto A può essere dominante su B, che è dominante su C, ma C può essere dominante su A.

L'ordine di dominanza è mantenuto da un complesso linguaggio posturale e mimico-espressivo, mentre la stabilità sociale si basa sul riconoscimento del rango e sul rispetto degli spazi. Lo studio della prossemica degli equidi ha consentito di evidenziare come nello spazio gestito da un gruppo familiare, l'area centrale è utilizzata per il riparo ed il riposo (cosiddetto *home range*), mentre per ogni soggetto si possono distinguere:

- uno *spazio individuale*, necessario per i movimenti di base, che rappresenta lo spazio critico nel quale sono possibili reazioni difensive;
- uno *spazio di sicurezza*, che corrisponde alla via di fuga in caso di pericoli;
- uno *spazio sociale o personale*, rispetto agli altri membri del gruppo, in cui sarà ammesso esclusivamente il soggetto di pari rango.

L'associazione nel mondo equino, può essere riferita al *peer attachment* (attaccamento tra pari), definizione che indica la relazione tendenzialmente duratura che s'instaura fra individui e che negli equidi è facilmente osservabile sia in natura sia in cattività, delineandosi quindi come bisogno primario.

Per le giumente il *peer attachment* è una condizione che le accompagna per tutta la vita e nella maggior parte dei casi le associazioni si stabiliscono fra soggetti di rango ed età simile durante il pascolo, il riposo e il grooming.

Nell'asino, rispetto al cavallo, l'attività di grooming è maggiormente sviluppata e rappresenta il collante sociale per eccellenza. Non è raro osservare fra due soggetti, per parecchi minuti, il reciproco mordicchiamento del garrese. La presenza di tale atteggiamento di vincolo sociale è tipica delle specie socialmente più evolute e più esso è manifesto e maggiormente l'individuo risentirà dell'isolamento sociale a causa di sconfinamenti o separazioni dal gruppo di appartenenza.

Ritornando al *peer attachment*, le stesse associazioni possono non persistere in età adulta, anche se, tendenzialmente, quando i giovani lasciano il gruppo natale, lo fanno in coppia invece che da soli, per entrare a far parte di un altro gruppo sociale o, soprattutto se sono coppie miste, servire da nucleo per la formazione di un nuovo gruppo. I legami tra maschi in un gruppo di scapoli sono apparentemente deboli, dal momento che tali gruppi non sono di norma molto stabili.

Il linguaggio corporeo consente al soggetto dominante di far spostare il gruppo o singoli soggetti, senza contatto fisico, ma semplicemente usando modificazioni della propria posizione rispetto al campo visivo di chi deve essere guidato. Difatti negli spostamenti o nelle fughe esso si mantiene in retroguardia, di modo che gli sarà sufficiente una pressione, rappresentata dalla sua presenza, all'altezza dei posteriori, quindi in posizione periferica rispetto all'occhio; mentre per far cambiare direzione si pone in una posizione frontale rispetto all'occhio, come un invito a non proseguire in quel senso di marcia; in ultimo, per fermarlo, si pone in una posizione leggermente anteriore all'occhio del soggetto che deve essere guidato.

L'aggressione fisica diretta o accompagnata da espressioni ritualizzate, si manifesta solo verso i soggetti di rango sociale più simile e può essere preceduta da vocalizzazioni indicatrici del rango di dominanza; è stato osservato, infatti, che soggetti subordinati emettono vocalizzazioni più brevi rispetto ai soggetti dominanti.

Le conoscenze acquisite relativamente alle strategie comportamentali di *Equus asinus L.* riguardano prevalentemente le popolazioni selvatiche o brade ed il loro etogramma è stato indagato riguardo ai comportamenti di mantenimento (alimentazione, abbeverata, stazione, decubito e deambulazione) ed a quelli sociali ed eliminativi (defecazione, urinazione, grooming, investigazione olfattiva, giuoco e vocalizzazioni); risultano, invece, scarse le indagini etologiche, propriamente dette, nelle razze domestiche.

In letteratura risultano indagati i patterns comportamentali materni dell'asino di razza Martina Franca, in condizioni di management semiestensivo e conduzione dell'allevamento ai fini della produzione latte, durante il periodo di allattamento dalla 1ª settimana al VI° mese. La fattrice asinina di razza Martina Franca trascorre la maggior parte del tempo pascolando (30-47%), mentre quella selvatica può impegnare fino all'83.8%. Tale sensibile differenza è stata attribuita, fra l'altro, anche al livello nutritivo del pascolo.

In termini di comportamento sociale l'attività di grooming è risultata altamente rappresentata con un'aliquota percentuale compresa tra il 38,30% alla prima settimana di allattamento ed il 23,99% al 1° mese di lattazione. Riguardo, invece, alle interazioni madre-figlio di tipo ludico esse sono comprese tra il 7% ed il 14% dalla 1ª settimana al 3° mese; si attestano intorno al 27% al 4° mese e si mantengono pressoché invariate al 5° mese – 24% – ed al 6° mese – 19,82%. I dati riferiti, tuttavia non riportano osservazioni comportamentali attinenti al redo di razza Martina Franca.

Da indagini condotte in merito alle componenti materne e filiali dell'etogramma diurno e notturno dell'asino di razza Pantesca, allevato in condizioni di semistabulazione ai fini della sua tutela, è emersa un'organizzazione temporale notturna degli stati comportamentali del redo e delle strategie parentali materne analoga a quelle delle specie selvatiche, evidenziandosi, ad esempio, che l'attività di vigilanza notturna della madre sul riposo del redo le impedisce, dalle 19.00 alle 07.00, di assumere la postura in decubito sternocostale.

Indagini circa le eventuali ripercussioni della tipologia di management e di stabulazione ad indirizzo produttivo (latte) sugli aspetti più caratteristici del comportamento neonatale di *Equus asinus L.*, risultano effettuate attraverso lo studio dell'ontogenesi comportamentale del redo di razza Ragusana dalla nascita al 3° mese di vita.

Limitatamente agli stati comportamentali di fondamentale importanza quali indicatori di adattamento o disadattamento alle condizioni di management, nell'etogramma diurno del redo di razza Ragusana, allevato in funzione della produzione latte della madre, lo stato comportamentale percentualmente più rappresentato è quello della postura in decubito che presenta una omogenea evoluzione temporale positiva dal primo giorno di vita e fino al terzo mese, con valori percentuali più elevati in assoluto rispetto agli stati comportamentali di mantenimento e compresi nel range tra il 31% al 1° giorno ed il 43% al 90° giorno.

Ciò appare in controtendenza rispetto alle naturali strategie adottate dalle specie nidifughe e predate che, grazie alla precocità di sviluppo e acquisizione di un'elevata reattività comportamentale, riescono a far fronte alle insidie naturali. Il confinamento in un ambiente monotono sembrerebbe aver indotto un abbassamento della soglia di reattività che conduce, fra l'altro, ad un rallentamento dello sviluppo e della maturazione di caratteristiche comportamentali, fondamentali per la sopravvivenza.

Il riscontro che la categoria comportamentale "interazioni olfattive/tattili, investigazioni" presenta distribuzioni percentuali comprese tra il 9% al 1° giorno ed il 25% al 14° giorno, denoterebbe, fra l'altro, la tendenza ad investigare l'ambiente animato ed inanimato anche se impedito dal contesto ambientale (confinamento nel box).

Per quanto riguarda, invece, l'influenza delle condizioni di management relative alla "presenza della madre" dal 1° al 14° giorno e "assenza della madre" dal 30° al 90° giorno di età, i livelli di attività degli stati comportamentali: stazione in veglia vigile, postura in decubito e autogrooming, sono risultati aumentati nella condizione "assenza della madre"; mentre sono risultati diminuiti i livelli di attività degli stati comportamentali: deambulazione, giuoco e interazioni e/o investigazioni olfattive/tattili. Il considerevole aumento dell'attività di autogrooming è stato interpretato come vera e propria attività sostitutiva, prodromica delle atipie comportamentali.

È ormai scientificamente riconosciuto che alcuni fondamentali comportamenti debbano poter essere espletati per garantire condizioni di benessere animale, nel senso che alcuni comportamenti garantiscono il mantenimento dell'omeostasi emozionale animale. Se l'animale viene impedito nella espressione di tali comportamenti, definiti bisogni etologici, si instaurano situazioni di privazione specifica che conducono alla sofferenza, intesa non come rappresentazione centrale del dolore periferico, bensì come quella condizione nella quale l'animale rappresenta le privazioni protratte nel tempo.

Nel caso di utilizzo produttivo degli asini, di norma, è consigliabile il loro confinamento permanente all'aperto con ricoveri; tuttavia, nel caso di necessità di confinamento in box essi devono soddisfare le seguenti misure minime:

Altezza al garrese	< 120 cm	120-148 cm	> 148-162 cm	162-175 cm
Superficie minima (in m ²)	5,5	7	8	9
Larghezza minima del box (in m)	almeno una volta e mezza l'altezza al garrese			

Al fine di mitigare l'eventuale stress indotto dalla mungitura è opportuno ricorrere ai benefici effetti del cosiddetto *social buffering*, cioè avvalersi della spiccata socialità e gregarietà degli equidi, consentendogli di svolgere libero movimento in gruppo

È raccomandabile che gli asini vengano stabulati in ricoveri collettivi, avendo cura di verificare preliminarmente l'affinità sociale. Nel caso di ricoveri collettivi i criteri sono soddisfatti quando:

- le dimensioni minime che figurano nella tabella successiva sono rispettate;
- in un box di gruppo la superficie minima corrisponde alla superficie minima di un box per la stabulazione individuale;
- sono predisposte strutture che permettano agli equidi di evitarsi e di ritirarsi, tranne nel caso di soggetti giovani;
- non sono presenti vicoli ciechi;
- nella stabulazione in gruppo, il settore di riposo e di uscita sono accessibili stabilmente attraverso un ampio passaggio.

Altezza al garrese (cm)	< 120 cm	120-134 cm	> 134-148	> 148-162	> 162-175	> 175
Superficie minima per equide (in m ²)	5,5	7	8	9	10,5	12

L'interesse commerciale verso il comparto zootecnico asinino di qualità, quale è quello della produzione del latte, richiede impegnative risposte di ordine sanitario, produttivo e non ultimo, di ordine bioetico sia nei confronti dell'integrità animale, sia e soprattutto a garanzia delle riconosciute qualità intrinseche al prodotto latte d'asina.

LA RIPRODUZIONE NELLA SPECIE ASININA

AUGUSTO CARLUCCIO, IPPOLITO DE AMICIS, ROBERTA BUCCI,
DOMENICO ROBBE

*Servizio di Riproduzione Grandi Animali, Ospedale Veterinario Universitario Didattico,
Facoltà di Medicina Veterinaria - Università degli Studi di Teramo*

La corretta gestione della riproduzione negli animali in produzione zootecnica è un elemento essenziale nella gestione dell'allevamento asinino.

È necessario, in prima istanza, osservare le dovute disposizioni di legge. In Italia attualmente, la normativa in vigore fa riferimento al Decreto del Ministero delle Politiche Agricole 403/2000, in attuazione alla Legge n. 30 del 15 gennaio 1991 e successive modifiche. Essa fornisce le indicazioni riguardanti le autorizzazioni necessarie, i requisiti strutturali e i requisiti sanitari per i riproduttori. In particolare, sono ammessi alla riproduzione solo i soggetti iscritti al Libro Genealogico di razza o ai Registri Anagrafici ed approvati per la riproduzione dalle associazioni di razza.

La conoscenza delle peculiarità riproduttive è necessaria per poter adeguare la gestione manageriale dell'allevamento ed ottenere risultati riproduttivi soddisfacenti.

LA FATTRICE ASININA

Cenni di anatomia dell'apparato riproduttore

Le descrizioni anatomiche dell'apparato genitale femminile della specie asinina riportate in bibliografia sono limitate, pertanto quanto riportato è frutto di osservazioni e rilievi effettuati dagli Autori su fattrici asinine di Martina Franca, razza italiana di grandi dimensioni e del peso medio di circa 350 kg.

L'apparato genitale femminile (Figura 1) ha la funzione di produrre i gameti femminili ed è la sede in cui avviene la fecondazione. Inoltre, ospita il feto, lo nutre e lo protegge durante tutto il corso della gravidanza fino al raggiungimento del suo completo sviluppo e quindi al parto (Bortolami, 2000).

Può essere suddiviso in tre grandi sezioni (Barone, 2003):

- il seno urogenitale, costituito dal vestibolo della vagina e dalla vulva, rappresenta i genitali esterni;
- la sezione tubulare, che costituisce le vie genitali propriamente dette ed è suddivisa in cervice e vagina, collocate in cavità pelvica; tube uterine e utero, site in addome;
- le gonadi femminili, rappresentate dalle ovaie, situate in cavità addominale.

La vulva è costituita da due labbra vulvari che confluiscono a formare una commessura dorsale ed una ventrale. Cranialmente a quest'ultima è situato il clitoride, una struttura omologa al pene (Blanchard, 2003). Una caratteristica di questa specie è la presenza di due pliche cutanee che partono dalla porzione medio-laterale delle labbra vulvari e continuano nel perineo con direzione dorso-laterale, terminando ai lati dello sfintere anale, e da una serie di pliche trasverse che originano dalla rima vulvare, dirette abassialmente. Queste sono più evidenti e rilevate durante il diestro (Figura 2a), mentre durante l'estro si distendono fino ad es-

sere poco apprezzabili o a scomparire (Figura 2 b). Tale situazione conferisce alla vulva un aspetto allungato, flaccido e pastoso.

La vagina è un organo tubulare con lume virtuale, lungo circa 14-16 cm, appiattito dorso-ventralmente con pareti sottili ed elastiche. La mucosa è rosa-pallido nel diestro e rossastra, quasi congesta, durante l'estro; è separata dalla vagina da una piega di tessuto, situata sul pavimento, detta plica vulvo-vaginale, che ricopre l'orifizio uretrale esterno. Il tratto caudale della vagina, caratterizzato da diametri ridotti, continua nel seno urogenitale, a formare il vestibolo vaginale. A questo livello è presente l'imene, che nell'asina ha consistenza muscolo membranosa.

Cranialmente alla vagina è situata la cervice uterina, lunga circa 6 cm, costituita da un ispessimento solido e compatto della parete compresa tra vagina e corpo dell'utero. Il canale cervicale si apre in vagina mediante l'ostio cervicale esterno, situato sulla sommità di un voluminoso tubercolo. La mucosa che riveste il canale cervicale si solleva in pliche longitudinali in numero variabile da 8 a 10.

L'utero, bicornue, è in proporzione più piccolo che nella cavalla ed è lungo circa 28-30 cm. Le corna uterine appaiono brevi, tozze e con apici arrotondati (Figura 1).

La parete uterina è costituita da 3 tonache: perimetrio, esterno; miometrio, intermedio; endometrio, interno o luminale (Bortolami, 2000). L'endometrio è ricco di ghiandole ad azione esocrina ed endocrina, coinvolte nella regolazione ormonale dell'attività del ciclo estrale e nella produzione di sostanze nutritive per l'embrione, il cosiddetto "latte uterino".

La continuità anatomica fra le corna dell'utero e le rispettive ovaie è data dalle tube uterine, o salpingi. Nell'asina il loro andamento è poco circonvoluto, descrivendo un arco di cerchio sulla faccia laterale dell'ovaio. Le salpingi possono essere divise in quattro segmenti: infundibolo, ampolla, istmo e porzione uterina. La fimbria ovarica origina dall'ostio tubarico ed è rinforzata da un prolungamento dei legamenti propri della salpinge: questa struttura è contigua con l'ovaio ipsilaterale ed è essenziale affinché gli oociti che sono stati ovulati passino dall'ovaio alle tube uterine.

L'ovaio, del peso di circa 25-40 g, con un'asse maggiore di circa 4,5-5 cm ed un'asse minore di circa 3-3,5 cm ha la forma di un rene e presenta una depressione molto accentuata sulla superficie concava, detta fossetta ovulatoria. Infatti, negli equidi la stratigrafia dell'ovaio è invertita rispetto alle altre specie: lo sviluppo della midollare esterna è preponderante e lo strato corticale contenente i follicoli (parenchima) è all'interno dell'organo, raggiungendo la superficie solo a livello di fossetta ovulatoria (Bortolami, 2000).



Fig. 1 - appar. genitale di asina.

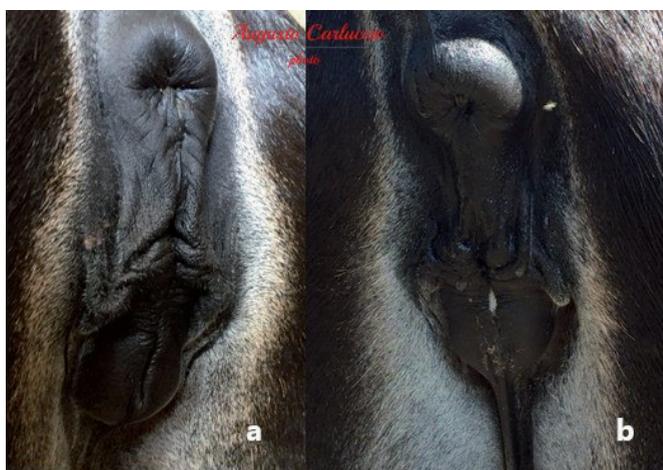


Fig. 2 - genitali esterni di asina. A) diestro B) estro.

Fisiologia riproduttiva e caratteristiche del ciclo estrale

Gli equidi, dal punto di vista riproduttivo, sono considerati animali poliestrionali stagionali a fotoperiodo positivo, tuttavia nella specie asinina, a differenza della specie equina, l'attività riproduttiva sembra essere meno influenzata dalla stagionalità. Un'attività riproduttiva regolare infatti è rilevabile anche durante i mesi invernali (Contri et al., 2014).

Nelle specie a fotoperiodo positivo la ripresa della capacità riproduttiva è determinata dall'aumento delle ore di luce nell'arco della giornata. La risposta dell'organismo alla luminosità ambientale è mediata dalla melatonina, prodotta dalla ghiandola pineale durante le ore di buio.

Il ciclo riproduttivo è regolato dall'asse ipotalamo- ipofisi- gonadi. L'ormone per il rilascio delle gonadotropine (GnRH) di produzione ipotalamica è responsabile del rilascio degli ormoni follicolostimolante (FSH) e luteinizzante (LH) da parte dell'ipofisi. Queste agiscono sull'ovario, stimolando l'accrescimento follicolare, l'ovulazione e la formazione del corpo luteo.

La melatonina regola la secrezione delle gonadotropine con un meccanismo di feedback: nei mesi invernali, durante i quali prevalgono le ore di buio, i livelli di melatonina sono elevati ed inibiscono l'attività dell'asse ipotalamo-ipofisi (feedback negativo); in primavera invece, con l'aumento delle ore di luce, diminuisce la produzione di melatonina e riprende l'attività riproduttiva regolare (feedback positivo) (Hafez, 2011). Diversi studi dimostrano che alle nostre latitudini l'attività riproduttiva nella specie asinina sembra essere meno influenzata dal fotoperiodo rispetto alla specie equina (Carluccio et al., 2003; Contri et al., 2014).

La pubertà, nelle puledre, intesa come comparsa del primo ciclo estrale, è raggiunta intorno ai 12-14 mesi. Ciononostante, è preferibile attendere i 30 mesi per avviarle alla carriera riproduttiva, per garantire un corretto e completo sviluppo corporeo della futura fattrice.

Il ciclo estrale ha una durata di $23 \pm 0,8$ giorni: non sussistono differenze significative nella lunghezza media durante le diverse stagioni (Contri et al., 2014). Può essere suddiviso in due fasi: estro, o fase follicolare, della durata di 7- 9 giorni (più lungo in primavera ed estate, più corto in autunno ed inverno) e diestro, o fase luteinica, della durata di 15- 18 giorni (più lungo in autunno ed inverno) (Contri et al., 2014).

Dalla pubertà, è possibile osservare un'alternanza regolare dei cicli estrali.

Il momento dell'ovulazione è caratterizzato dalla deiscenza del follicolo dominante. Questa struttura, di pertinenza della corticale ovarica, si accresce sotto lo stimolo dell'FSH ed è responsabile della produzione di estrogeni ed inibina. Tali ormoni provocano una rimodulazione nella secrezione di FSH ed LH, provocando un picco di quest'ultimo che favorisce la deiscenza del follicolo (Carluccio et al., 2003).

I meccanismi che portano all'ovulazione si verificano durante la fase estrale che, dal punto di vista comportamentale, è caratterizzata dalle manifestazioni tipiche del "calore", determinate dall'influenza degli estrogeni. L'asina infatti mostra la sua disponibilità all'accoppiamento emettendo dei vocalizzi, esponendo ritmicamente il clitoride ("ammiccamento", figura 3a), mimando la postura dell'accoppiamento (sollevamento in punta degli zoccoli dei posteriori ed abbassamento del bacino, figura 3b), emettendo getti di urina e secrezioni vaginali, portando indietro ed abbassando le orecchie e compiendo un movimento simile alla masticazione (Mouth-clapping, figura 3c). Questa manifestazione è tipica solo dell'asino e della zebra, non è mai stata rilevata invece nella cavalla.

Per identificare un'asina in estro è possibile utilizzare uno stallone ruffiano. La presentazione al maschio, per circa 15 minuti, (teasing), infatti, evoca nella fattrice in estro tutte le manifestazioni comportamentali.



Fig. 3 - a) “ammiccamento”; b) postura di disponibilità all’accoppiamento; c) Mouth-clapping.

L’ovulazione avviene circa 24 h prima della scomparsa degli atteggiamenti estrali. In seguito, se esposta allo stallone, l’asina rifiuta l’accoppiamento disinteressandosi al maschio o calciando.

Con l’ovulazione, l’ovocita è rilasciato nell’ampolla della tuba mentre il follicolo va incontro ad una modificazione strutturale e funzionale che porta alla formazione del Corpo Luteo (CL). Questa struttura ha attività endocrina ed è responsabile della produzione di progesterone. La comparsa del CL segna l’inizio del diestro, o fase luteinica. Il progesterone predispone un ambiente favorevole all’instaurarsi della gravidanza. Inoltre, mantiene bassi i valori di LH, ma non di FSH, che in questa fase è responsabile del reclutamento di una nuova ondata follicolare, da cui sarà selezionato il follicolo dominante per il ciclo successivo.

In assenza di fecondazione, a circa 14-16 giorni dall’ovulazione (Carluccio et al., 2008) l’endometrio uterino rilascia prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) che agisce sul CL, provocandone la lisi. Questo evento determina il crollo del progesterone e, di conseguenza, la riattivazione dell’asse ipotalamo-ipofisi gonadi e la comparsa di un nuovo ciclo estrale.

Management riproduttivo



Fig. 4 - a) follicolo dominante; b) follicolo pre-ovulatorio; c) corpo luteo.

La corretta gestione riproduttiva della fattrice prevede che il ciclo estrale sia attentamente monitorato al fine di individuare il momento migliore per procedere alla monta naturale o all’inseminazione strumentale. Dal termine della fase luteinica, la fattrice è visitata ogni 48-72 h, con palpazione trans rettale e valutazione ecografica delle ovaie. Il follicolo dominante supera i 30 mm di diametro circa 5 giorni prima dell’ovulazione ed ha parete tesa (figura 4a), mentre al momento della deiscenza ha dimensioni di $43 \pm 0,1$ mm e, alla palpazione mostra una parete molto fluttuante (figura 4b) (Contri et al., 2014). Le visite cliniche andrebbero effettuate ogni 24 h quando la fattrice manifesta il comportamento del “calore” ed il follicolo supera i 3 cm. La monta naturale, o l’inseminazione strumentale con seme fresco o refri-

gerato, è effettuata quando il follicolo mostra caratteristiche prossime all'ovulazione: parete fluttuante e spot iperecogeni all'esame ecografico trans-rettale (figura 4b). La fattrice deve essere monitorata per confermare l'avvenuta ovulazione ed individuare il corpo luteo (figura 4c). Un secondo accoppiamento/inseminazione può essere effettuato a 48 h dalla precedente, qualora non si verifichi l'ovulazione.

Gli spermatozoi, depositati a livello cervicale, risalgono le vie genitali femminili fino alle tube uterine. Qui incontrano l'ovocita ed ha luogo la fecondazione (Bortolami, 2000).

Dopo circa 5-6 giorni, lo zigote raggiunge l'utero e qui si annida intorno al 18° giorno post ovulazione. A partire dal 12° giorno, una accurata e delicata ecografia trans rettale permette di individuare la vescicola embrionale, con un diametro iniziale di circa 10 mm. Questa rimane mobile nell'utero materno fino al 16°-18° giorno, quando, con una dimensione di circa 26 mm, avviene la fissazione alla base di uno dei corni, prevalentemente il destro. La diagnosi di gravidanza è confermata, sempre per via ecografica, a 28 giorni dall'ovulazione quando, nell'embrione vitale, è possibile apprezzare l'attività cardiaca (figura 5) (Carluccio et al., 2005).

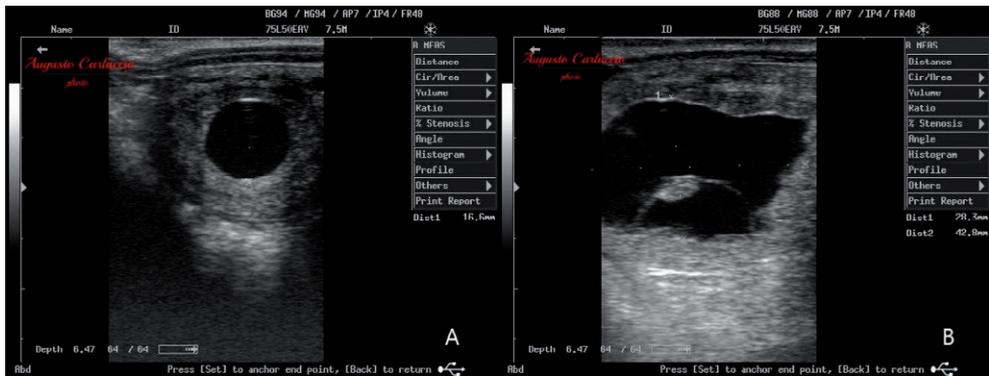


Fig. 5 - a) diagnosi di gravidanza positiva a 14 giorni; b) diagnosi di gravidanza positiva a 28 giorni. È possibile distinguere l'embrione quasi al centro della camera gestazionale.

Gravidanza e parto

La presenza del *conceptus* blocca la sintesi di $PGF2\alpha$ da parte dell'utero. In tal modo, il CL continua la produzione progesterone necessario per il mantenimento della gestazione.

I meccanismi di riconoscimento materno-fetale non sono ancora ben noti negli equidi: un ruolo importante sembra da attribuire ai movimenti dello zigote in utero nei giorni che precedono l'annidamento. Alcuni studi tuttavia suggeriscono che anche l'invasione trofoblastica possa essere implicata in tale processo (Klain et al., 2011).

Il progesterone mantiene concentrazioni ematiche elevate durante i primi cinque mesi di gestazione. Nei primi 28 giorni, la sua produzione è totalmente a carico del CL gravidico; all'incirca dal 40° giorno, sulle ovaie compaiono dei CL accessori, che contribuiscono a mantenere elevati i valori del progesterone fino al quinto mese di gestazione (Noakes et al., 2008).

I corpi lutei accessori originano sotto l'influsso della Gonadotropina Corionica Equina (eCG), ormone ad azione LH simile secreto dalle coppe endometriali, strutture temporanee ad azione endocrina che si formano alla base del corno gravido a partire dal 35° giorno di gestazione (Noakes et al., 2008).

Il profilo endocrino degli equidi gravidi è caratterizzato anche dalla presenza di livelli elevati di estrogeni, prodotti sia dai follicoli ovarici (McKinnon, 2011) che dalle gonadi fetali.

li (Noakes et al., 2008). I valori massimi di questi ormoni sono osservati attorno ai 150-200 giorni, ma sono rilevabili nelle urine delle asine gravide fino al 300° giorno di gestazione (Bucci et al., 2020). Le concentrazioni ematiche di estrogeni e progesterone tendono a scendere a valori basali nelle ultime 4-5 settimane prima del parto (Crisci et al., 2014).

La gestazione nella specie asinina ha una durata molto variabile: mediamente dura 371 giorni, con un range variabile da 330 a 390 giorni (Crisci et al., 2014; Carluccio et al., 2015).

Il parto normale, o eutocia, corrisponde al momento dell'espulsione di feto ed invogli fetali attraverso il canale del parto, dopo una gestazione fisiologica. Tale evento è preceduto, da qualche giorno ad un paio di settimane prima, da una "fase di preparazione" in cui l'asina progressivamente mostra i segni di parto imminente: affossamento dei fianchi; addome a botte; progressivo rilascio dei legamenti sacro – ischiatici; edema ed allungamento della rima vulvare; scioglimento del tappo mucoso cervicale; aumento della mammella e presenza di gocce di colostro sui capezzoli ("imperlatura") che assumono una conformazione più allungata, perpendicolare al terreno, aumentando di volume e di turgidità. Nelle ultime 24-36 ore che precedono l'evento, nella maggior parte dei casi, il secreto mammario vira, diventando meno denso e mieloso e più biancastro. È possibile apprezzare la variazione di colore e consistenza del secreto mammario utilizzando la "prova del panno": una goccia di secreto è fatta cadere su di un panno nero, se non è possibile vedere la tramatura del tessuto attraverso la goccia, il parto è imminente. Tuttavia, questo test non risulta sempre affidabile, pertanto è possibile ricorrere a kit commerciali per il dosaggio, mediante reazione colorimetrica, delle concentrazioni di calcio nel secreto mammario. Il parto è prossimo quando le concentrazioni superano le 200 ppm (Foal Watch, CheMetrics, Inc.).

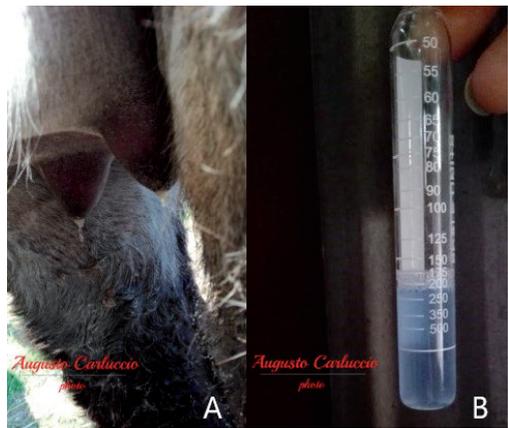


Fig. 6 - a) "imperlatura"; b) Test Foal Watch indicativo di parto entro 24 h (Foal Watch, CheMetrics, Inc.)



Fig. 7 - a) fase espulsiva; b) secondamento.

Il parto può essere didatticamente suddiviso in 3 fasi (Carluccio et al., 2015):

- fase dilatante, caratterizzata da contrazioni uterine, non direttamente apprezzabili, ed irrequietezza della fattrice. Tale fase termina con la rottura del corion-allantoide e dura mediamente 65 ± 24 min.
- fase espulsiva, che va dalla rottura del corion- allantoide fino al completo passaggio del feto attraverso il canale del parto. In situazioni di eutocia l'espulsione è completa in 18 ± 5 min (Figura 7a).
- espulsione delle membrane fetali, della durata di 57 ± 45 min in condizioni fisiologiche (Figura 7b).

La placenta, dopo l'espulsione, deve essere attentamente ispezionata per valutarne l'integrità e le principali caratteristiche (Carluccio et al., 2008). Questa al momento dell'espulsione è capovolta rispetto alla sua collocazione uterina, quindi si apprezza la superficie coriale all'esterno. Successivamente deve essere introflessa, esponendo la superficie uterina all'esterno, e disposta ad "F", ponendo alla base il polo cervicale, il corno gravido a formare il segmento superiore della F ed il corno vuoto quello inferiore. La placenta sana presenta un colore rosso porpora ed un aspetto vellutato per la presenza dei villi coriali (Figura 8).

Nell'immediato post partum devono essere, anche, prestate le prime cure al neonato. In particolare, bisogna accertarsi che il cordone ombelicale si rompa a circa 5 cm dall'addome del puledro, in corrispondenza di una leggera depressione del cordone stesso. Ciò normalmente avviene in pochi minuti dall'espulsione. Il moncone del cordone deve essere accuratamente disinfettato con una soluzione diluita di iodio.

È bene anche accertarsi della vitalità del puledro utilizzando il sistema di valutazione APGAR (Veronesi et al., 2013) e verificare che compia la prima assunzione di colostro entro 2 ore dalla nascita. Anche l'espulsione del meconio deve essere registrata: nel neonato sano infatti, le prime feci sono espulse entro circa 90 minuti dal parto (Carluccio et al., 2015).



Fig. 8 - Placenta disposta ad F con ippomane.

LO STALLONE ASININO

Cenni di anatomia riproduttiva

L'apparato genitale maschile (Figura 9a) è costituito da organi e strutture preposti alla produzione di materiale seminale ed alla sua deposizione all'interno delle vie genitali femminili (Bortolami et al., 2000).

Esso è suddivisibile in tre tratti (Barone, 2003):

- le gonadi, rappresentate dai due testicoli;
- il tratto tubulare, formato dalle vie di raccolta e di trasporto del seme, ulteriormente suddivisibile in epididimo, dotto deferente e ampolla del deferente;
- la sezione urogenitale, costituita da un lungo condotto impari, l'uretra, cui sono annesse delle ghiandole e delle formazioni erettili, di cui la principale è data dal corpo cavernoso. L'unione dell'uretra extra-pelvica con tale corpo costituisce il pene o verga, l'organo copulatore maschile.

I testicoli sono organi pari e sono la sede di produzione dei gameti maschili, gli spermatozoi. Sono collocati, insieme ad epididimo e tratto iniziale del deferente, nella borsa scrotale (Bortolami et al., 2000) collocata, nella specie asinina, in posizione sub-inguinale, cranialmente alle cosce.

Le dimensioni medie testicolari dell'asino sono variabili in funzione della taglia. Infatti, in soggetti di grandi dimensioni, come l'asino di Martina Franca, del peso di circa 350-400 kg, le gonadi maschili misurano mediamente 9,6 x 6,8 x 5,2 cm (Carluccio et al., 2003 & 2013), mentre soggetti del peso di 120-200 kg hanno dimensioni medie di 7,6 x 5,5 x 5,1 (Gastal et al., 1997).

L'epididimo è lungo circa 12-13 cm. Il corpo si presenta relativamente ispessito, la coda è globosa e spostata caudalmente rispetto al testicolo. L'epididimo continua nel dotto deferente, che dalla borsa scrotale si porta in cavità pelvica ed addominale, per connettersi all'uretra pelvica. Nell'asino tale struttura tubulare misura circa 60-70 cm e termina con l'ampolla del deferente, una struttura di circa 20 cm, caratterizzata negli equidi da una mucosa di tipo ghiandolare (Bortolami et al., 2000).

L'uretra misura circa 60-70 cm di lunghezza. In essa sboccano le ghiandole bulbo uretrali e la prostata. È divisa in un tratto pelvico e in un tratto penieno, compreso tra i corpi cavernosi del pene, che sbocca a livello del processo uretrale del glande.

L'organo copulatore, o verga, è costituito dai corpi cavernosi del pene e dal corpo spongioso del glande, molto sviluppato negli equidi (Bortolami et al., 2000). La verga ha dimensioni variabili; nel soggetto in erezione, può superare i 50 cm, dipendentemente dalla taglia (McKinnon, 2011). L'organo a riposo è completamente avvolto da un fodero di cute, il prepuzio, che termina circa 5-8 cm caudalmente all'ombelico.

Le ghiandole annesse all'apparato riproduttore (Figura 9b) dell'asino sono: le ampolle, le vescichette seminali o ghiandole vescicolari, la prostata e le ghiandole bulbo-uretrali.

La vescichetta seminale è una struttura pari di 4-5 cm, dorsale all'ampolla del deferente, è assottigliata e si insinua nella parte profonda della prostata, dove continua in un breve canale escretore.

La prostata non possiede la parte disseminata, ma forma un corpo ghiandolare largo e nettamente bilobato, che si estende sulla faccia dorsale e sulle facce laterali dell'uretra. Mostra un istmo dello spessore di circa 1 cm e con una lunghezza di 2-3 cm in senso cranio-caudale

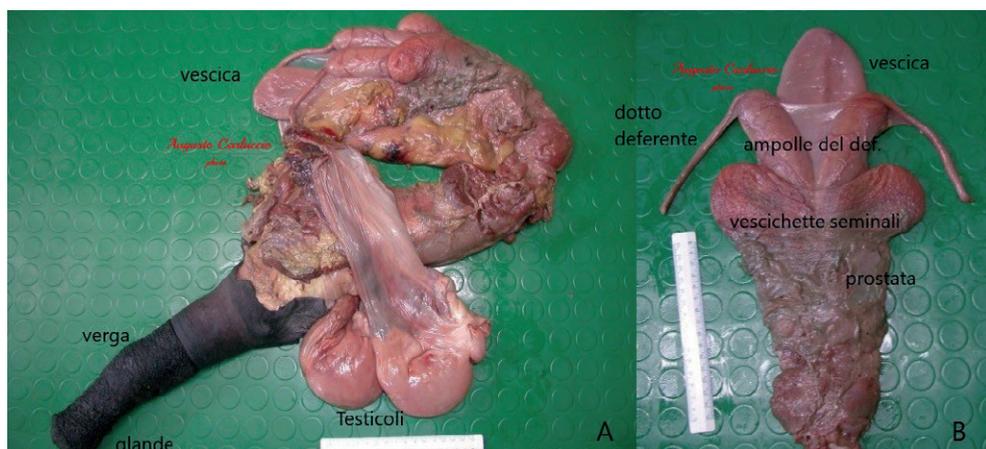


Fig. 9 - a) apparato riproduttore maschile di asino; b) ghiandole accessorie.

compreso tra due lobi, ciascuno dei quali è largo 3–5 cm e lungo 6–10 cm. Questi ultimi sono ovoidali e debordano per breve tratto in direzione craniale sui lati del collo della vescica.

Ogni ghiandola bulbo uretrale è formata da lobuli, drenati da 6–8 condotti escretori distinti e presenta tessitura più densa della prostata (Barone, 2003).

Le secrezioni delle ghiandole annesse all'apparato riproduttore costituiscono il plasma seminale dell'eiaculato.

Cenni di fisiologia riproduttiva e comportamento sessuale

Come per la fattrice, anche per lo stallone asinino alle latitudini mediterranee è stata dimostrata la capacità riproduttiva durante tutto l'anno, pur con un miglioramento delle caratteristiche dell'eiaculato e della libido durante la stagione estiva (Carluccio et al., 2013).

La pubertà, intesa come comparsa nell'eiaculato dei gameti e del comportamento sessuale (Hafez, 2011), è raggiunta dallo stallone asinino attorno ai 15-18 mesi. I soggetti sono avviati alla riproduzione dopo i 30 mesi di vita, quando hanno quasi raggiunto il completo sviluppo morfologico.

La regolazione dell'attività riproduttiva è regolata dall'asse ipotalamo-ipofisi-gonadi e, differentemente dalla fattrice, non è ciclica ma continua.

La melatonina, le cui concentrazioni sono dipendenti dalla luminosità ambientale, influenza l'attività ipotalamica. L'ipotalamo secreta GnRH, responsabile della sintesi di FSH ed LH di origine ipofisaria. Questi agiscono sulle gonadi stimolando la produzione di gameti da parte dell'epitelio seminifero col sostegno delle cellule del Sertoli e di Testosterone da parte delle cellule del Leydig.

È stato dimostrato che elevate concentrazioni di melatonina riducono la produzione di testosterone (Samper, 2008), giustificando le migliori performance riproduttive nei mesi a fotoperiodo positivo rispetto a quelli a fotoperiodo negativo.

Il processo di spermatogenesi richiede all'incirca 60 giorni negli equidi (McKinnon, 2011). I gameti sono prodotti dai testicoli e sono riversati nell'epididimo dove ha luogo un processo di maturazione. Sono poi stoccati a livello di coda dell'epididimo fino al momento dell'eiaculazione (Gloria et al., 2011).

Il testosterone è responsabile del comportamento sessuale dello stallone, quando esposto alla fattrice in estro. Tipicamente, il maschio testa la disponibilità all'accoppiamento della femmina annusando la zona genitale, aprendo la bocca ed arricciando il labbro superiore per attuare il Flehmen (Canisso et al, 2010). Questo atteggiamento, evidenziabile anche nelle fattrici nell'immediato post partum, permette di percepire i feromoni implicati nella riproduzione emessi dalla femmina in estro ed è mediato dall'organo vomero-nasale, sito ventro-lateralmente al setto nasale (Kostov, 2007). Altri comportamenti che precedono la copula sono il "battere" il terreno sia con gli anteriori che con i posteriori ed i tentativi di mordere garretti, gropa o garrese della fattrice.

Una volta appurata la disponibilità della fattrice alla monta, lo stallone compie l'impennata ed appoggia gli anteriori ai lati delle spalle della fattrice durante l'accoppiamento. L'avvenuta eiaculazione è rilevabile evidenziando i movimenti a bandiera della coda, meno evidenti che nello stallone equino, che corrispondono alle pulsazioni uretrali.

Valutazione morfo-funzionale

Gli stalloni asinini destinati alla riproduzione devono essere sottoposti a valutazione morfo funzionale ed analisi del materiale seminale prima dell'inizio di ogni stagione di monta, per verificarne la salute e la fertilità. Devono inoltre essere sottoposti, con esito negativo, agli esami per le comuni malattie della sfera genitale (Anemia Infettiva, Arterite Virale, Encefalite Virale, Morbo Coitale Maligno, Morva, Metrite Equina Contagiosa, Rinopolmonite Infettiva).



Fig. 10 - a) fattrice asinina pronta per la monta. La zona del garrese è protetta da una “mantellina” per attenuare i morsi da parte dello stallone; b) raccolta del materiale seminale. L'operatore indossa i dispositivi individuali di sicurezza.

Ogni soggetto deve essere sottoposto ad un Esame Obiettivo Generale, ponendo particolare attenzione ad eventuali lesioni ed anomalie che potrebbero compromettere l'abilità alla monta.

L'apparato riproduttore deve essere attentamente ispezionato, previa esposizione dello stallone ad una fattrice in estro, per permettere l'erezione della verga. La presentazione alla femmina permette anche di valutare la libido dei soggetti in esame.

La palpazione trans rettale e l'esame ecografico delle ghiandole annesse all'apparato riproduttore andrebbero regolarmente effettuati, per evidenziare alterazioni che potrebbero alterare la qualità dell'ejaculato.

In sede di valutazione morfo-funzionale, deve essere valutata anche la qualità del materiale seminale, pertanto è necessario effettuare una raccolta con l'uso di vagina artificiale.

È bene ricordare che in questa fase è necessario garantire la sicurezza di tutti gli operatori e gli animali coinvolti (Figura 10 a, b).

Valutazione del materiale seminale

Il materiale seminale prodotto deve essere sottoposto ad analisi macroscopica e microscopica.

L'analisi macroscopica dell'ejaculato permette la valutazione del volume, del colore e dell'odore.

Il pH oscilla da 7.0 a 7.4, entro questi limiti non vi sono alterazioni della fertilità. L'analisi microscopica a fresco fornisce indicazioni sulla concentrazione e sulla motilità del campione.

Un ejaculato di buona qualità ha normalmente consistenza cremosa e colore biancastro lattescente. Colorazioni anomale sono indice di contaminazione con sangue, urina o pus.

In tabella 1 sono riportate le caratteristiche principali del materiale seminale di stalloni di razza Martina Franca (modificato da Carluccio et al., 2013).

Tabella 1: caratteristiche dell'ejaculato asinino durante l'anno (modificato da Carluccio et al., 2013)

	Inverno	Primavera	Estate	Autunno
Volume totale (ml)	99,7±31,35	86,1±23,50	82,5±19,77	80,5±18,29
Concentrazione (x 10 ⁶ /ml)	285,9±69,32	319±73,22	329,3±66,07	310±64,67
pH	7,25±0,06	7,25±0,06	7,25±0,05	7,24±0,05
Motili totali (%)	82,5±6,05	81,9±5,45	81,2±5,61	81,4±5,42

BIBLIOGRAFIA

- Barone, R. (2003). Anatomia comparata dei mammiferi domestici, vol. 4: Splancnologia. Edagricole, Bologna.
- Blanchard, T. L. (2003). Manual of equine reproduction. Mosby.
- Bortolami, R., Beghelli, V., Callegari, E. (2000). Anatomia e fisiologia degli animali domestici. Calderini Edagricole, Bologna.
- Bucci, R., Giangaspero, B.A., D'angelo, M., Robbe, D., Ponzio, P., Manetta, A.C., Di Giuseppe, L., De Amicis, I., (2020) Cuboni Reaction: non-invasive late pregnancy test in Martina Franca jennies. Large Animal Review. In press
- Canisso, I.F., Carvalho, G. R., Morel, M. D., Guimaraes, J. D., & McDonnell, S. M. (2010). Sexual behavior and ejaculate characteristics in Pêga donkeys (*Equus asinus*) mounting estrous horse mares (*Equus caballus*). *Theriogenology*, 73(1), 56-63.
- Carluccio, A., Gloria, A., Veronesi, M. C., De Amicis, I., Noto, F., Contri, A. (2015). Factors affecting pregnancy length and phases of parturition in Martina Franca jennies. *Theriogenology*, 84(4), 650-655.
- Carluccio, A., Panzani, S., Contri, A., Bronzo, V., Robbe, D., & Veronesi, M. C. (2013). Influence of season on testicular morphometry and semen characteristics in Martina Franca jackasses. *Theriogenology*, 79(3), 502-507.
- Carluccio, A., Panzani, S., Contri, A., Tosi, U., De Amicis, I., Veronesi, M. C. (2008). Luteal function in jennies following PGF2 α treatment 3 days after ovulation. *Theriogenology*, 70(1), 121-125.
- Carluccio, A., Panzani, S., Tosi, U., Riccaboni, P., Contri, A., Veronesi, M. C. (2008). Morphological features of the placenta at term in the Martina Franca donkey. *Theriogenology*, 69(8), 918-924.
- Carluccio, A., Pau, S., Picci, G., Tosi, U., De Amicis, I., Zedda, M. T., Scalandrone, M., De Fanti, C. (2003). Il ciclo estrale nell'asina di Martina Franca: osservazioni comportamentali ed ecografiche. *Veterinaria Pratica Equina*, 3.
- Carluccio, A., Villani, M., Contri, A., Tosi, U., Battocchio, M. (2004). Studio preliminare su alcune caratteristiche seminali e morfometriche testicolari dello stallone asinino di Martina Franca. *Ippologia*, 4, 23-26.
- Carluccio, A., Villani, M., Contri, A., Tosi, U., Veronesi, M. C. (2005). Rilievi ecografici della gravidanza precoce nell'asina di Martina Franca. *Ippologia* 16(4), 31-35.
- Contri, A., Robbe, D., Gloria, A., De Amicis, I., Veronesi, M. C., Carluccio, A. (2014). Effect of the season on some aspects of the estrous cycle in Martina Franca donkey. *Theriogenology*, 81(5), 657-661.
- Crisci, A., Rota, A., Panzani, D., Sgorbini, M., Ousey, J. C., Camillo, F. (2014). Clinical, ultrasonographic, and endocrinological studies on donkey pregnancy. *Theriogenology*, 81(2), 275-283.

- Gastal, M. O., Henry, M., Beker, A. R., Gastal, E. L. (1997). Effect of ejaculation frequency and season on donkey jack semen. *Theriogenology*, 47(3), 627-638.
- Gloria, A., Contri, A., De Amicis, I., Robbe, D., Carluccio, A. (2011). Differences between epididymal and ejaculated sperm characteristics in donkey. *Animal reproduction science*, 128(1-4), 117-122.
- Hafez, E. S. E., Hafez, B. (2011). *Riproduzione negli animali d'allevamento*. libreriauniversitaria.it ed.
- Klein, C., Troedsson, M. H. (2011). Transcriptional profiling of equine conceptuses reveals new aspects of embryo-maternal communication in the horse. *Biology of reproduction*, 84(5), 872-885.
- Kostov, D. L. (2007). Vomeronasal organ in domestic animals. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*, 10(1), 53-57.
- McKinnon, A. O., Squires, E. L., Vaala, W. E., Varner, D. D. (Eds.). (2011). *Equine reproduction*. John Wiley & Sons.
- Noakes, D. E., Parkinson, T. J., England, G. C. W., (2008). *Arthur's Ostetricia e riproduzione veterinaria*, 8° ed. Giraldi editore.
- Samper, J. C. (2008). *Equine breeding management and artificial insemination*. Elsevier Health Sciences.
- Veronesi, M. C., Castagnetti, C., & Taverne, M. A. M. (2013). *Neonatologia veterinaria*. EdiSES.

LA LATTAZIONE DELL'ASINA

PASQUALE DE PALO, ALESSANDRA TATEO

Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università di Bari A. Moro

LE BASI FISIOLOGICHE DELLA LATTAZIONE

Quando si parla di lattazione, si intende il fenomeno della produzione di secreto dalla ghiandola mammaria nel tempo, ed in particolare dal periparto sino all'interruzione della galattopoiesi. Quindi parlare di lattazione sottintende due fattori fondamentali: la sintesi ed escrezione di colostro/latte ed il tempo. Tale fenomeno fisiologico, per quanto sia determinato da dinamiche metaboliche, endocrine, cellulari abbastanza simili in tutti i mammiferi, presenta delle peculiarità specie-specifiche direttamente correlate alle attitudini etologiche ed ai fabbisogni della prole. Quindi, il fenomeno della lattazione può essere affrontato sicuramente sotto differenti punti di vista, per quanto esso vada concepito sempre in maniera organica e unitaria. Nel presente paragrafo si intende affrontare il fenomeno della lattazione con un duplice approccio: da un lato quello della biologia cellulare; dall'altro la relazione tra produzione di latte e i fabbisogni del puledro asinino.

Dal punto di vista della biologia cellulare i fenomeni che interessano le cellule secernenti alveolari mammarie sono riassumibili in tre categorie: la proliferazione delle cellule del parenchima mammario, la loro differenziazione in cellule secretorie, e la loro morte cellulare programmata, anche detta apoptosi (Pollot, 2000; Knight e Wilde, 1993). La proliferazione cellulare è il primo fenomeno preparatorio alla funzione secretoria della ghiandola mammaria. Essa inizia durante le prime fasi della gravidanza e raggiunge il suo picco massimo immediatamente dopo il parto. Inoltre, tale fenomeno tende a crescere con l'ordine di parto, quindi questo spiega, in parte, il differente livello produttivo delle asine primipare rispetto alle pluripare. Sempre nel periparto prende avvio anche il fenomeno opposto alla proliferazione: l'apoptosi, la quale continuerà sino all'interruzione della lattazione stessa. Quindi, dal punto di vista della biologia cellulare, l'effetto produzione di latte nel tempo è di fatto il risultato della contemporanea azione di due fenomeni antitetici: proliferazione cellulare ed apoptosi (Wilde et al., 1997). Pertanto, l'andamento della produzione di latte nel tempo è frutto della presenza in quel dato giorno di cellule del parenchima mammario secernenti, a loro volta frutto della risultanza di due fenomeni cellulari contrapposti. Un aumento della produzione di latte, in questo sistema biologico, quindi, indicherà una prevalenza dei fenomeni proliferativi rispetto a quelli apoptotici, così come al contrario, una prevalenza di questo ultimo fenomeno rispetto alla proliferazione si traduce in una riduzione della quantità di latte secreto.

A questi due fenomeni cellulari si abbina il terzo: la differenziazione cellulare che rappresenta l'attivazione metabolica delle cellule secernenti. Questo fenomeno prende avvio nel periparto, raggiungendo il massimo della sua intensità proprio in corrispondenza del picco massimo di latte prodotto durante la lattazione, per poi diminuire gradatamente.

Relativamente alla specie asinina, non vi sono studi ad oggi che hanno approfondito le peculiarità specie-specifiche relative alle dinamiche cellulari delle cellule secernenti parenchimali. L'assenza di studi specifici sull'asina in lattazione determina la impossibilità di dare una lettura al fenomeno della lattazione basata sulle peculiarità specie-specifiche di tipo cellulare, con la conseguente impossibilità di interpretare il fenomeno produzione di latte con modelli

e teorie basate sul metabolismo cellulare e parenchimale mammario. Questo aspetto rappresenta effettivamente una interessante sfida per il settore della ricerca scientifica prima, e per il comparto produttivo dopo, in quanto la comprensione di tali dinamiche potrebbe essere di grande aiuto per tendere ad implementare l'efficienza produttiva in questa specie.

Poiché la specie asinina non ha, ad oggi, subito pressioni selettive finalizzate all'incremento della produzione lattea, vale la pena affrontare la relazione tra lattazione e allattamento del puledro, in quanto la ragione ontogenica della produzione di latte è esattamente quella di avviare alla vita indipendente il redo asinino. Tale stretta relazione tra lattazione e allattamento, se in alcuni genotipi e razze di ruminanti ha ormai perso ogni collegamento reale, è mantenuta in molte specie di interesse zootecnico, compresa l'asina.

Di fatto la tecnica di allevamento maggiormente diffusa prevede che la produzione di latte per usi umani sia frutto della condivisione di tale secreto col puledro asinino. L'anatomia e le dimensioni della mammella dell'asina rispondono in maniera adeguata alle esigenze del puledro. Questo spiega perché il volume totale mammario rappresenti una esigua percentuale rispetto al peso vivo e metabolico dell'asina, con valori assoluti inferiori ai 2 litri, una capacità di modificare la propria forma e volume al massimo stato di replezione poco rilevante per la mammella (dal 10 % al 18% massimo, a seconda delle misure considerate) rispetto ai capezzoli (fino al 25% per il diametro della base). A questo si abbina, inoltre, un volume trascurabile degli spazi cisternali mammari multipli, assimilabili più a cavità/tasche tutte connesse alla cisterna del capezzolo, capaci di accogliere non più del 15-20% del latte totale stoccato (D'Alessandro et al., 2015).

Questa tipologia di mammella è quanto di più adeguato a redi con una elevata frequenza di poppata, in quanto essa è capace, stante la grande quantità di parenchima rispetto al volume totale, di produrre per unità di volume relativamente alte quantità di latte, a discapito, però, della capacità di stoccaggio. Infatti, i puledri asinini variano la frequenza di poppata da 1 a 3 volte l'ora, con una riduzione man mano che essi crescono e incrementano l'assunzione di alimento solido, che già nella prima settimana di vita prende avvio (Tateo et al., 2013). Questo aspetto rappresenta un tema fondamentale nella fisiologia della lattazione dell'asina. La necessità di una mungitura molto frequente ha portato nel tempo l'uomo ad adattare la propria tecnica di allevamento, vedendo il ruolo del puledro lattante, non già come un semplice fattore negativo, in quanto necessitante di latte materno, altrimenti utilizzabile da parte dell'uomo (come per esempio avvenuto nel comparto bovino da latte), ma come un fattore fondamentale per garantire la lattazione dell'asina, in quanto la frequenza di allattamento del puledro non può in nessun modo essere sostituita con una pari frequenza di mungitura. Pertanto, la pratica dell'allattamento naturale è stata nei secoli mantenuta, con un ruolo della mungitura da parte dell'uomo fondamentalmente come quota parziale di impiego della intera produzione giornaliera dell'asina. Questo tipo di assetto, inoltre, ha consentito nel tempo di poter ottenere latte da asine sulla base delle necessità commerciali dell'allevatore, non creando in nessun modo problematiche relative alla gestione di prodotto invenduto. Infatti, la pratica della mungitura in questo tipo di contesto può essere praticata fino a cinque volte al giorno, come per nulla, a seconda dei fabbisogni commerciali dell'allevatore. Quindi, l'allattamento naturale del puledro, se da un lato rappresenta un fattore limitante all'incremento dell'ottenimento di latte destinato all'uomo, dall'altro consente il mantenimento dei livelli produttivi e del tempo di produzione lattea (quindi della lattazione), senza oneri aggiuntivi per l'allevatore. Negli ultimi anni, però, il tema del rapporto attrice asinina/puledro nel sistema di allevamento da latte è stato affrontato con tentativi di introdurre innovazioni alle tecniche tradizionali. In previsione di una sessione di mungitura, la pratica più frequente e tradizionalmente adottata è, ed è stata, l'interruzione della possibilità di suzione da parte del puledro circa tre ore prima, con tecniche che vanno dalla separazione fisica tra madre e puledro, sino all'applicazione di sistemi fisici in grado di impedire al puledro la prensione del capezzolo (musara).

Questi periodi di allontanamento possono inficiare lo stato di benessere sia della madre che del redo. Recenti ricerche (De Palo et al., 2018a; 2018b) hanno tentato di risolvere tale problematica, introducendo una tecnica di allattamento mista, basata sull'allattamento con latte ricostituito artificiale del puledro durante le ore diurne, consentendo quindi una totale utilizzazione del latte sintetizzato a fini economici, ed un allattamento naturale durante le ore notturne, impedendo così che l'allevatore debba continuare le mungiture in orari difficilmente praticabili. Questa pratica, introdotta a livello pilota, ha determinato risultati importanti sia sul benessere del puledro, sia sulle performance di accrescimento di questo, ma anche sulla quantità di latte munto da ciascuna attrice, per altro impiegando come latte artificiale un latte ricostituito per vitelli, opportunamente modificato, quindi con un rapporto tra costo del latte somministrato ai puledri e valore del latte munto dalla madre assolutamente vantaggioso. Un aspetto stupefacente di tale tecnica è che i puledri, pur ricevendo latte ricostituito con un impianto di allattamento artificiale durante le ore diurne, e allattando naturalmente dalle madri nelle ore notturne, non hanno in alcun modo mostrato sintomi patologici (diarree, sindromi da malassorbimento, alterazioni dell'etogramma), né peggioramenti delle performance, che anzi sono migliorate (incremento ponderale giornaliero, peso vivo allo svezzamento) (De Palo et al., 2016; 2017a)

Questa tipologia di innovazione, per quanto ad uno stato iniziale, potrebbe incrementare la redditività di ogni singola attrice asinina, senza inficiare in alcun modo i tempi e la quantità di manodopera dedicata. Seppur trattati sinora in maniera distinta, il rapporto attrice/puledro e le dinamiche di differenziazione cellulare e di proliferazione cellulare sono tutt'altro che fenomeni indipendenti. Se la prima fase della lattazione, con la sua attivazione massiva di fenomeni proliferativi e di differenziazione (e quindi di avvio dell'attività secretiva) rappresenta un punto fondamentale per la produzione di latte nell'intera lattazione, il fenomeno sotteso ad un differente grado di attivazione cellulare, così come di velocità di attivazione, dipende dall'influsso di ormoni tipicamente coinvolti nella galattopoiesi, tra cui l'ossitocina, la somatotropina, le IGF e la prolattina. Questi ormoni sono secreti da differenti ghiandole endocrine della attrice ma hanno in comune come organo bersaglio il parenchima secernente mammario. Nella prima fase della lattazione, lo stimolo maggiormente efficace nel determinare più alti livelli di tali sostanze endocrine, così come di aumentare le frequenze di picchi di concentrazione plasmatica, è la frequenza di allattamento, oltre che il vigore con il quale il puledro surge il latte.

Quindi, la presenza di un puledro vivo e vitale, particolarmente capace di assumere latte, determinerà una risposta cellulare in termini di maggior numero di cellule epiteliali alveolari e, di queste, un alto numero di cellule in effettiva fase secernente, rispetto a femmine che allattano puledri più piccoli, deboli, o addirittura che hanno perso il proprio redo. Questo fenomeno è assolutamente ragionevole dal punto di vista ontogenico: la attrice produce una quantità di latte variabile in funzione del differente fabbisogno mostrato dal puledro, quindi la frequenza di deplezione mammaria nelle prime settimane dopo il parto, così come l'intensità degli stimoli fisici percepiti dalla mammella durante l'allattamento naturale determinano la maggiore o minore velocità di incremento della sintesi di latte, così come della quantità assoluta di latte prodotta. Questo fattore oggi non è oggetto di attenzione nella specie asinina, stante la permanenza del puledro con la attrice, demandando quindi alla vitalità ed alla capacità di suzione del puledro questa funzione, ma nell'ipotesi di separazione tra attrice e puledro (fosse anche parziale nelle 24h) potrebbe essere oggetto di tecniche di allevamento nuove e capaci di sfruttare questi principi fisiologici per una maggiore produttività. Non è secondario, ad esempio, l'introduzione nel comparto bovino da latte di sistemi di mungitura robotizzata, nei quali la manodopera rimane invariata (ma molto più specializzata), ma di contro consente una maggiore frequenza di mungitura. L'introduzione e l'applicazione di

queste nuove tecnologie nel comparto asinino potrebbero rappresentare un grande fattore di incremento della efficienza produttiva.

In verità, nella realtà aziendale si assiste spesso ad una incapacità delle asine di avere, in assenza di puledri, adeguati rilasci di ossitocina, capaci di garantire una soddisfacente deplezione del parenchima mammario, che, come detto, rappresenta grande parte del volume mammario, quindi non libera il latte se non sotto effetto di concentrazioni plasmatiche efficaci di ossitocina. Questo fenomeno potrebbe essere determinato da inadeguata capacità di abituare le asine alla routine della mungitura (De Palo et al., 2018b), ma dall'altro, è ipotizzabile che questo fenomeno veda anche altri fattori (genetici per esempio) che giustificerebbero anche una oggettiva variabilità individuale. In animali gestiti nello stesso modo e nel medesimo allevamento sono sottese variabilità individuali, anche su base genetica.

Numerose sono le esperienze condotte a livello nazionale ed internazionale dell'uso di sale di mungitura nelle quali le asine vengono condotte da sole, senza puledri, nelle quali si ha adeguato svuotamento mammario, segno di una variabilità individuale elevata nelle varie popolazioni e razze asinine circa la capacità di avere riflessi condizionati (dall'ambiente, dalla routine di mungitura, dagli stimoli sensoriali della sala di mungitura...) capaci di dare elevati ed adeguati livelli di ossitocina anche in assenza dei puledri. Questo vuol dire che vi sono ampi margini per selezionare geneticamente quei capi più sensibili ad altri stimoli, più facilmente mungibili meccanicamente in assenza di puledri, ottenendo in relativamente poco tempo animali capaci di avere una eiezione del latte adeguata, anche in assenza degli stimoli forniti dai puledri.

MODELLIZZAZIONE DELLA LATTAZIONE DELL'ASINA

Il grafico in grado di descrivere una lattazione prende il nome di curva di lattazione. Essa indica in origine una curva generata dalla raccolta empirica di dati di produzione quantitativa, raccolti giornalmente, dal parto, al termine della lattazione. Essa è una curva, generata su un asse cartesiano dove sulle ascisse è riportato il tempo, sulle ordinate la produzione quantitativa (di latte o di un particolare componente del latte). Per le ragioni espresse nel precedente paragrafo, la curva di lattazione, al netto delle peculiarità specie-specifiche, razza-specifiche ed individuali, è sempre caratterizzata, almeno negli animali domestici, da:

1. una fase di ascesa, nella quale i processi proliferativi e di attivazione della sintesi galattopoietica prevalgono sui processi apoptotici a livello parenchimale mammario, e che ha la funzione di accrescere i volumi prodotti di latte in relazione all'aumento della capacità di assunzione di latte della prole, a seguito dell'incremento che la medesima ha in termini di peso vivo e sviluppo corporeo;
2. una fase di picco, più o meno duratura, tanto da essere in alcuni casi individuata non già come picco (massima produzione dell'intera lattazione che dura al massimo qualche giorno), ma come plateau (massima produzione dell'intera lattazione per un periodo relativamente più lungo). Rappresenta il momento di massima assunzione di latte da parte della prole;
3. una fase di declino della produzione di latte, in cui pian piano i processi proliferativi si riducono ed aumentano quelli apoptotici, generando un calo della quantità totale di cellule secernenti, con conseguente trend negativo della produzione. Rappresenta, per la prole, una fase nella quale alla riduzione dell'apporto di latte, corrisponde un incremento dell'interesse ed assunzione di alimento solido, necessario in questa fase per consentire all'organismo di adattarsi all'assunzione degli alimenti che consentiranno poi lo svezzamento, inteso come capacità della prole di impiegare unicamente alimento solido per la propria sussistenza, terminando l'assunzione di latte.

Almeno negli animali domestici, la fase di ascesa della produzione di latte è molto rapida ed occupa una fase molto ridotta rispetto all'intera durata della lattazione. Al contrario, la fase di declino della curva di lattazione solitamente assume un andamento molto più graduale, lento, e tende ad occupare molto più della metà dell'intera lattazione. Per questa ragione, il grado di decremento della produzione di latte nella fase di declino della curva, rappresenta un fattore importante nel determinismo della quantità di latte totale prodotto nella lattazione, essendo questa fase molto lunga. Questo spiega perché grande attenzione viene data al cosiddetto indice di persistenza della curva di lattazione. Esso indica, in generale, la percentuale di latte prodotta il giorno successivo, rispetto a quella prodotta il giorno precedente. Essendo una fase di calo, appare intuitivo che un indice di persistenza più alto porterà a lattazioni molto più produttive (la fase di declino della curva è meno inclinata graficamente e quindi con livelli di decremento meno rapidi), ma anche a lattazioni più lunghe (si raggiunge più tardi il livello produttivo oltre il quale l'animale smette di produrre latte).

Sin dagli inizi dello studio della biologia della lattazione negli animali produttori di latte si è sentita l'esigenza di poter gestire modelli matematici in grado di descrivere prima, e poi far prevedere, l'andamento della lattazione negli animali domestici. Tale esigenza ha generato veri e propri filoni di ricerca che hanno dato nei ruminanti da latte non solo ragguardevoli risultati scientifici, ma anche e soprattutto strumenti utili al comparto zootecnico per la selezione genetica, ed anche per la valutazione dei vari fattori influenzanti la lattazione.

A seguito della produzione, su grandi numeri di lattazioni di tali curve empiriche, ha preso avvio un filone di ricerca che, sin dagli ultimi anni della prima metà del '900 ha portato vari scienziati a modellizzare con formule matematiche tali curve. Questo passaggio ha rappresentato un grande passo in avanti per la zootecnia da latte, in quanto, data una produzione di latte (o grasso, proteina...) ad un determinato giorno della lattazione, si poteva stimare come sarebbe proceduta la lattazione stessa.

Come tutti i fenomeni biologici, anche la lattazione non è facilmente inquadrabile in formule matematiche, in quanto le variabili sottese al fenomeno lattazione sono talmente numerose, spesso neanche note, che le funzioni matematiche possono ambire semplicemente ad avere il minore errore di predizione possibile, più che ambire a predire esattamente quello che avverrà in termini di produzione nel tempo. In questi decenni si sono susseguiti molti studi che hanno introdotto vari modelli matematici capaci di predire, con maggiore o minore capacità, la lattazione delle varie specie e delle varie razze. Negli ultimi anni, anche la specie asinina, insieme a quella equina, sono state indagate per verificare la capacità di predizione di alcune formule matematiche nello stimare la reale curva di lattazione, sia lavorando sulle singole lattazioni di più fattrici, sia lavorando su dati medi derivanti da più lattazioni. Le formule matematiche impiegate sono grossomodo classificabili in due grandi categorie: i modelli a tre parametri (funzione gamma incompleta di Wood, modello esponenziale di Wilmlink) e quelli a cinque parametri (equazioni polinomiali, come quella quadratica inversa di Nelder, la regressione polinomiale di Ali e Scheffer, e molte altre). La principale differenza tra queste due categorie sta nella sensibilità alle variazioni produttive in tempi brevi. In particolare, le formule polinomiali, essendo molto più ricche di concavità e convessità, tendono a descrivere in maniera dettagliata anche piccole variazioni della tendenza produttiva che occorrono per tempi brevi. Al contrario, i modelli a tre parametri sono capaci di descrivere gli andamenti generali della curva di lattazione, al netto di piccole variazioni in brevi periodi. Quindi, questi due modelli possono assurgere a finalità totalmente differenti. Se l'obiettivo è valutare come un fattore di breve durata (concepimento, periodo di insorgenza di una patologia, un periodo di stress ambientale...) possa influenzare la produttività degli animali, ha senso impiegare modelli a cinque parametri, molto più precisi nell'evidenziare tali variazioni. Se, invece l'obiettivo è la valutazione generale dell'andamento della curva di lattazione, indipendentemente da fattori in grado di influenzare per brevi e limitati periodi il fenomeno produttivo, lo strumento

migliore sono le equazioni a tre parametri. Nonostante sulla lattazione dell'asina siano stati testati vari modelli matematici, appartenenti a varie tipologie (Bordonaro et al., 2013), quella più comunemente utilizzata, per altro con buona capacità di aderire alla lattazione reale, è il modello di Wood (De Palo et al., 2017b; Bordonaro et al., 2013; D'Alessandro et al., 2012).

Tra queste ultime, negli equidi, diverse ricerche hanno dimostrato una buona capacità predittiva del modello di Wood, sia nella cavalla, che nell'asina. La formula generale di tale modello è:

$$Y_t = at^b + e^{-ct}$$

dove “ Y_t ” rappresenta la produzione di latte (o proteina, grasso...) al tempo t ; “ a ” è la produzione quantitativa di secreto mammario al tempo zero, cioè al parto; “ b ” è il coefficiente di incremento produttivo dal parto al picco di lattazione; “ c ” rappresenta il tasso di decremento della produzione quantitativa dopo il picco. Da tale formula, è possibile derivare altri parametri utili per lo studio della curva di lattazione come:

1) la produzione quantitativa al picco di lattazione:

$$a(b/c)b \cdot e^{-b}$$

2) giorni in lattazione al picco:

$$b/c$$

3) l'indice di persistenza della curva di lattazione, che nel caso della curva di Wood è un parametro adimensionale

$$s = - (b + 1) \ln (c)$$

Relativamente all'applicazione del modello di Wood nell'asina vi sono differenti ricerche, finalizzate ad ottenere vari scopi, ma soprattutto gestendo razze asinine e protocolli di mungitura molto distanti tra loro. Questo ha generato inevitabilmente risultati molto differenti, apparentemente in contrasto, ma invece molto utili e funzionali, nel loro complesso, a comprendere come sarà sempre difficile parlare di livello produttivo, efficienza produttiva nell'asina in lattazione se non si uniforma in uno o più tecniche standardizzate la mungitura a livello nazionale o internazionale. Su questo anche l'International Committee for Animal Recording, Ente internazionale che redige le linee guide per la valutazione e raccolta dati dei tratti funzionali degli animali in produzione zootecnica ha attivato un Comitato Equidi, finalizzato ad individuare linee guida utili per la raccolta di controlli funzionali sulla produzione quanti-qualitativa di latte.

I modelli matematici, inoltre, assumono un ruolo fondamentale non solo per la valutazione della produzione quantitativa di latte, ma possono contribuire in maniera significativa alla comprensione dell'andamento di vari aspetti qualitativi durante la lattazione. Capire come variano alcuni nutrienti, alcuni componenti del latte, ci aiuta a comprendere indirettamente le modalità di sintesi ed il metabolismo secretivo sotteso, ma anche quali “leve” sono utilizzabili nell'ambito di un piano di miglioramento non solo quantitativo, ma anche qualitativo del latte asinino.

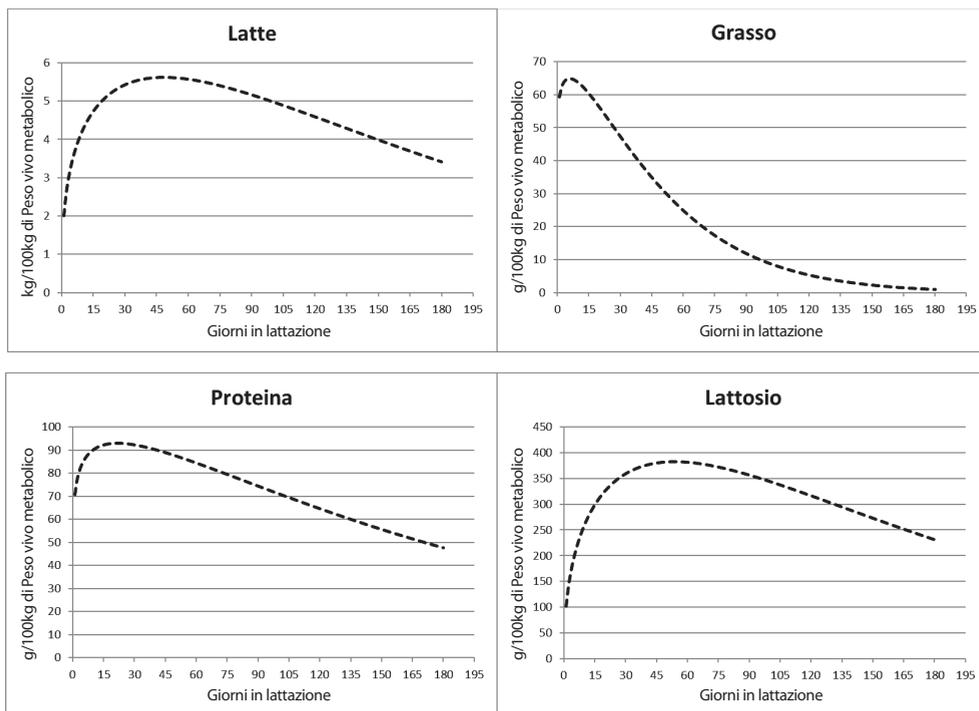


Figura 1 - Produzione di latte e delle sue componenti principali nell'asina di Martina Franca, normalizzate per 100 kg di peso vivo metabolico. (Modificato da [De Palo et al., 2017b]).

FATTORI INFLUENZANTI LA LATTAZIONE DELL'ASINA

Gli studi sulla modellizzazione matematica delle asine sono stati condotti per durate di lattazione variabile dai 6 ai 10 mesi, corrispondenti di fatto all'epoca di svezzamento naturale dei puledri. Relativamente all'insorgenza del picco di lattazione, cioè del punto massimo di produzione di latte, la bibliografia è abbastanza variabile, a seconda della frequenza dei rilievi, delle razze considerate e di molti altri fattori, ma questo compare mediamente tra i 46 e 48 giorni dal parto (De Palo et al., 2017b, D'Alessandro et al., 2012). In alcuni lavori vi sono dati differenti, ma fondamentalmente correlabili ad un sistema di rilevamento della produzione durante la lattazione meno frequente e simile al sistema dei controlli funzionali condotti in altre specie da latte (Bordonaro et al., 2013). L'insorgenza del picco, per altro, ha mostrato una grande variabilità individuale, con estremi che vanno da 24 a 82 giorni (D'Alessandro et al., 2012).

Relativamente alla relazione tra insorgenza del picco e produzione totale vi sono pochi risultati disponibili, ma vi è una evidenza di una tendenza a ritardare il picco di lattazione all'aumentare del numero dei parti, così come ad aumentare la produzione totale di latte. Questo indica una dinamica abbastanza simile a quella rilevata in altri ruminanti: più tardi giunge il picco, maggiore è la durata della fase ascendente della curva, maggiore sarà la produzione al picco, maggiore sarà la durata della fase di maggiore produzione dell'intera lattazione; da un livello produttivo più alto prenderà inizio la lenta fase discendente. La correlazione tra insorgenza del picco e produzione si conferma anche nella valutazione del tempo di insorgenza

del picco di lattazione rispetto alla stagione di parto. La stagione di parto che ha mostrato un picco di lattazione più anticipato ed il livello produttivo della lattazione più basso è l'estate; il picco più ritardato e la maggiore produzione totale nella lattazione è stata verificata per le asine che partoriscono in inverno (Bordonaro et al., 2013). Probabilmente, l'effetto stagione sottende un effetto climatico ambientale, abbinato anche ad una variabilità della qualità del pascolo tali da influenzare la produzione delle asine.

Relativamente alle produzioni massime al picco, la possibilità di comparare i risultati ottenuti dai vari lavori diventa alquanto complessa e assolutamente poco utile, in quanto la razza/genotipo impiegati, la gestione aziendale e alimentare, la gestione del puledro, le condizioni geopedoclimatiche, la frequenza di mungitura, la frequenza di rilevamento dei dati lungo la lattazione, l'ordine di parto, la tecnica di mungitura e molti altri fattori rendono praticamente impossibile poter fornire dati attendibili.

Di particolare interesse è, invece, la valutazione dell'andamento della produzione di grasso, proteine totali e lattosio nella lattazione, in comparazione alla produzione di latte totale. Questo aspetto assume ovviamente da un lato una valenza ai fini della comprensione del metabolismo del puledro neonato, ma dall'altra indica le peculiarità qualitative del latte sulla base della lattazione stessa. Nel presente capitolo si è scelto di non affrontare tale tema usando la concentrazione di grasso e proteina nel latte (espressa in percentuale), ma la quantità totale giornaliera prodotta. Questa scelta è dettata fondamentalmente dalla possibilità di poter trattare della sintesi dei principali componenti solidi del latte, slegandoli dalla variabile "quantità di latte prodotta". Stante la variabilità che mostra questa ultima, altrettanto complessa sarebbe stata la discussione dei dati relativi alla concentrazione nel latte di ciascun componente.

Absolutamente in linea con altre specie, la produzione quantitativa di lattosio segue perfettamente come trend la produzione quantitativa di latte. Questo conferma il ruolo del lattosio nel determinismo della quantità di latte prodotta anche in questa specie, caratterizzata, rispetto al latte di ruminanti, da una maggiore concentrazione di questo disaccaride. In particolare, per quanto la concentrazione di questo zucchero differisca dalle altre specie, questo valore tende a mantenersi costante in termini di concentrazione lungo la lattazione, seguendo una produzione in quantità assoluta giornaliera esattamente sovrapponibile latte prodotto (Massouras, et al., 2017). Questo fenomeno è giustificato dal ruolo che il lattosio svolge a livello alveolare mammario. In particolare, la sintesi di lattosio da parte delle cellule secernenti, ed il suo riversamento nel lume alveolare, determinano un gradiente osmotico nel lume alveolare che determina il richiamo di acqua. Poiché l'acqua è l'elemento maggiormente rappresentato nel latte, soprattutto nell'asina, maggiore sarà la quantità di lattosio secreta nel lume alveolare, maggiore sarà il relativo richiamo di acqua, con un incremento del volume totale di latte prodotto.

Differenze sostanziali rispetto alla lattazione dei ruminanti da latte, invece, sono evidenti nell'andamento della produzione di grasso e proteina. In particolare, il grasso presenta un picco produttivo a circa 1-2 settimane dal parto per poi decrescere in maniera molto più rapida di quanto non faccia la produzione di latte. Anche la proteina totale presenta un picco anticipato rispetto a quello della quantità di latte, a circa 3-4 settimane, cui consegue un calo, meno rapido e brusco rispetto al grasso.

Dalla combinazione di questi fenomeni è ragionevole supporre quali siano le necessità nutrizionali, e quindi il metabolismo, del puledro. Infatti, appare chiaro come il redo abbia come principale fonte energetica nella fase di lattante i carboidrati e non i lipidi. Questi hanno un picco nei primi giorni di vita, quando l'adattamento alla vita extrauterina, e l'avvio delle principali funzioni fisiologiche ed etologiche post-natali, richiedono livelli energetici particolarmente elevati, a fronte di una relativamente ridotta capacità ingestiva. In tale condizione, i lipidi, per la loro densità energetica, svolgono un ruolo importante. Subito dopo, il ruolo di supporto energetico dei lipidi perde la sua importanza, con una netta prevalenza di apporto energetico attraverso i carboidrati.

Differentemente, la proteina, elemento nutrizionale fondamentale per le sue funzioni plastiche e correlate all'accrescimento, tende a continuare a crescere fino a circa un mese, quando il puledro ha ormai una significativa capacità di poter assumere livelli significativi di alimento solido. L'apporto proteico fornito con l'allattamento, inoltre, continua ben oltre il picco, fatto, questo, testimoniato da un indice di persistenza della sintesi di proteina non molto dissimile da quello della produzione latte.

Tali risultanze sono evidenti in lavori condotti nell'asino della razza Martina Franca, ma non stupirebbe che razze caratterizzate da stature inferiori da adulto possano mostrare andamenti differenti dei principali principi nutritivi del latte.

Un fattore fortemente impattante sulla lattazione è sicuramente il management alimentare, nonostante ricerche finalizzate alla valutazione di differenti regimi alimentari, soprattutto nella prima fase della lattazione, siano sostanzialmente assenti. Molta ricerca dovrà essere svolta su questo tema, partendo dalla gestione degli apporti energetici e proteici nella prima fase di lattazione, al fine di comprendere quanto tale fattore possa contribuire a miglioramenti sostanziali della curva di lattazione, per poi approfondire tali indagini e giungere, anche nella specie asinina, a definire protocolli di alimentazione di precisione capaci di fornire razioni ottimizzate per coprire al meglio i fabbisogni fisiologici di mantenimento e produzione per le asine (Miraglia et al., 2020). Molta strada è da compiere, su questo fronte, così come sull'applicazione di tecnologie innovative (robotizzazione, zootecnia di precisione...).

LA LATTAZIONE E LA QUALITÀ DEL LATTE

Nonostante vi siano ancora pochi studi sulla dinamica della lattazione, così come sulla modellizzazione dei fenomeni rilevati, relativamente più numerosi sono gli studi che valutano l'effetto della fase di lattazione sulla concentrazione di alcuni parametri qualitativi del latte di asina.

In particolare, negli ultimi anni, alcuni studi hanno teso ad indagare l'effetto della lattazione su alcune frazioni e componenti proteiche, sulla qualità della frazione lipidica, di quella minerale e della componente cellulare del latte.

Nei relativamente pochi lavori su tale tematica, molto spesso ricorre una discordanza di risultati. Oltre, ovviamente, alle solite variabilità di conduzione delle prove sperimentali che motivano tali differenze, occorre anche sottolineare che per alcuni parametri (vedi qualità del grasso e profilo lipidico a titolo esemplificativo) i fattori alimentari e gestionali spesso sono molto più impattanti dell'effetto stadio di lattazione (Valle et al., 2018).

Per quanto concerne la componente proteica di maggiore presenza (caseine, sieroproteine), i risultati sono discordanti, ma prevale una tendenza delle ricerche a non individuare durante la lattazione sostanziali variazioni nel rapporto tra queste frazioni proteiche, che tendono a rimanere costanti (Guo et al., 2007; Martini et al. 2014), o ad aumentare lievemente nelle prime fasi della lattazione (D'Alessandro et al., 2011). Ma entrando nel mondo affascinante delle singole proteine, peptidi, oligopeptidi, che rendono di fatto il latte di asina un alimento ben differente dal latte dei ruminanti, emergono delle chiare indicazioni relative all'esistenza di un effetto della lattazione. Infatti, i livelli di lisozima tendono ad essere maggiori nelle prime fasi della lattazione (Martini et al., 2019), mentre la lattoferrina, così come le immunoglobuline, la β -lattoglobulina, la α -lattalbumina non mostrano variazioni nella loro concentrazione nel latte al variare della fase di lattazione (Massouras et al., 2017).

Relativamente al profilo degli acidi grassi, nonostante una evidenza relativa all'aumento del grado di insaturazione col procedere della lattazione, con una sostanziale riduzione degli acidi grassi saturi ed un incremento degli insaturi, in particolare dei monoinsaturi (Massouras et al., 2017), va evidenziato come questo pattern qualitativo sia fortemente influenzato dall'a-

limentazione, essendo l'asina un monogastrico, con una maggiore correlazione tra qualità del profilo lipidico dell'alimentazione e quello del latte (Miraglia et al., 2020; Valle et al., 2018).

Un aspetto che negli ultimi anni è stato indagato è la capacità antiossidante del latte di asina, mostrando anche in questo aspetto un vantaggio sostanziale con le produzioni lattee dei ruminanti domestici, per quanto anche questo fattore non abbia mostrato grandi variazioni nel corso della lattazione (Beghelli et al., 2016).

Relativamente al profilo minerale, questo ha mostrato di essere influenzato dallo stadio di lattazione relativamente al calcio, fosforo, magnesio, sodio, ferro e zinco, per quanto con andamenti non sempre regolari. Di particolare evidenza una maggiore concentrazione di calcio, fosforo e magnesio nella prima parte della lattazione. Appaiono non variare con la lattazione, invece, potassio, cloro e rame (Malacarne et al., 2019)

La conta delle cellule somatiche, seppur tendente ad aumentare nell'ultima fase della lattazione, mantiene costantemente valori assolutamente bassi ed incomparabili con quelli riportati per il latte di ruminanti domestici (Salari et al., 2019).

CONCLUSIONE: LE PROSPETTIVE FUTURE DELLO STUDIO DELLA LATTAZIONE DELL'ASINA

Ad oggi la bibliografia disponibile sulla modellizzazione matematica della lattazione dell'asina ha contribuito ad apportare conoscenza non solo alle dinamiche sottese alla sintesi del latte *in toto*, ma anche all'andamento produttivo dei principali costituenti del latte, quali grasso, proteina, lattosio. Nel contempo, pur senza una modellizzazione matematica, numerosissimi lavori hanno dimostrato che l'effetto fase della lattazione è in grado di modificare/influenzare moltissimi parametri qualitativi del latte di asina, che viste le sue peculiarità, assumono un interesse di gran lunga superiore rispetto alla classica composizione centesimale grezza. In particolare, un effetto "fase di lattazione" è stato rilevato sulla concentrazione delle singole frazioni proteiche (e quindi anche enzimatiche), sul profilo degli acidi grassi, ma anche sul profilo macro- e micro-minerale. La possibilità di avere a disposizione modelli matematici, abbinata alla possibilità di poter standardizzare ed avviare sistemi di controllo quanti-qualitativo del latte uniformi sul territorio nazionale (aspetto che nel passato ha visto dei tentativi, per esempio, condotti in Sicilia, e che vede oggi un rinnovato interesse dell'International Committee for Animal Recording, ICAR), sono due prerequisiti fondamentali per fornire al mondo scientifico prima, e tecnico poi, quegli strumenti necessari non solo per la salvaguardia della biodiversità, ma per la valorizzazione di queste razze e popolazioni attraverso programmi di selezione genetica capaci di adattare e portare questi animali a rispondere ad un nuovo ruolo nella società del ventunesimo secolo: da motore animale a produttori di alimenti funzionali e nutraceutici.

BIBLIOGRAFIA

- Beghelli, D., Lupidi, G., Damiano, S., Cavallucci, C., Bistoni, O., De Cosmo, A., Polidori, P. (2016). Rapid assay to evaluate the total antioxidant capacity in donkey milk and in more common animal milk for human consumption. *Austin Food Sci*, 1, 1003-1006.
- Bordonaro, S., Dimauro, C., Criscione, A., Marletta, D., Macciotta, N. P. P. (2013). The mathematical modeling of the lactation curve for dairy traits of the donkey (*Equus asinus*). *J Dairy Sci*, 96, 4005-4014.
- D'Alessandro, A. G., Mariano, M., Martemucci, G. (2015). Udder characteristics and effects of pulsation rate on milking machine efficiency in donkeys. *J. Dairy Res.*, 82, 121-128.

- D'Alessandro, A. G., Martemucci, G. (2012). Lactation curve and effects of milking regimen on milk yield and quality, and udder health in Martina Franca jennies (*Equus asinus*). *J. Anim. Sci.*, 90, 669-681.
- D'Alessandro, A. G., Martemucci, G., Jirillo, E., Leo, V. D. (2011). Major whey proteins in donkey's milk: effect of season and lactation stage. Implications for potential dietary interventions in human diseases. *Immunopharm. Immunotox.* 33, 259-265.
- De Palo, P., Maggiolino, A., Albenzio, M., Casalino, E., Neglia, G., Centoducati, G., Tateo, A. (2018a). Survey of biochemical and oxidative profile in donkey foals suckled with one natural and one semi-artificial technique. *P. One*, 13(6).
- De Palo, P., Maggiolino, A., Albenzio, M., Caroprese, M., Centoducati, P., Tateo, A. (2018b). Evaluation of different habituation protocols for training dairy jennies to the milking parlor: Effect on milk yield, behavior, heart rate and salivary cortisol. *App. Anim. Behav. Sci.*, 204, 72-80.
- De Palo, P., Maggiolino, A., Ceci, E., Calzaretti, G., Centoducati, P., Tateo, A. (2018c). Survey on basal blood plasma catecholamine concentrations in Martina Franca donkey (*Equus asinus*). *Equine Vet. J.*, 50, 493-497.
- De Palo, P., Tateo, A., Maggiolino, A., Marino, R., Ceci, E., Nisi, A., Lorenzo, J. M. (2017a). Martina Franca donkey meat quality: Influence of slaughter age and suckling technique. *Meat Sci.*, 134, 128-134
- De Palo, P., Maggiolino, A., Centoducati, P., Calzaretti, G., Milella, P., Tateo, A. (2017b). Equid milk production: evaluation of Martina Franca jennies and IHDH mares by Wood's model application. *Anim. Prod. Sci.*, 57(10), 2110-2116.
- De Palo, P., Maggiolino, A., Milella, P., Centoducati, N., Papaleo, A., Tateo, A. (2016). Artificial suckling in Martina Franca donkey foals: effect on in vivo performances and carcass composition. *Trop Anim. Health Prod.*, 48, 167-173.
- Guo, H. Y., Pang, K., Zhang, X. Y., Zhao, L., Chen, S. W., Dong, M. L., Ren, F. Z. (2007). Composition, physicochemical properties, nitrogen fraction distribution, and amino acid profile of donkey milk. *J. Dairy Sci.*, 90, 1635-1643.
- Knight, C. H., Wilde, C. J. (1993). Mammary cell changes during pregnancy and lactation. *Liv. Prod. Sci.*, 35, 3-19.
- Malacarne, M., Criscione, A., Franceschi, P., Bordonaro, S., Formaggioni, P., Marletta, D., Summer, A. (2019). New Insights into Chemical and Mineral Composition of Donkey Milk throughout Nine Months of Lactation. *Animals*, 9, 1161-1174.
- Martini, M., Salari, F., Licitra, R., La Motta, C., Altomonte, I. (2019). Lysozyme activity in donkey milk. *Int. Dairy J.*, 96, 98-101.
- Martini, M., Altomonte, I., Salari, F., Caroli, A. M. (2014). Monitoring nutritional quality of Amiata donkey milk: Effects of lactation and productive season. *J. Dairy Sci.*, 97, 6819-6822.
- Massouras, T., Triantaphyllopoulos, K. A., Theodossiou, I. (2017). Chemical composition, protein fraction and fatty acid profile of donkey milk during lactation. *International Dairy Journal*, 75, 83-90.
- Miraglia, N., Salimei, E., Fantuz, F. (2020). Equine milk production and valorization of marginal areas – A review. *Animals*, 10, 353-370.
- Pollott, G. E. (2000). A biological approach to lactation curve analysis for milk yield. *J. Dairy Sci.* 83, 2448-2458.
- Salari, F., Ciampolini, R., Mariti, C., Millanta, F., Altomonte, I., Licitra, R., Auzino, B., D'Ascenzi, C., Bibbiani, C., Giuliotti, L., Papini, R.A., Martini M. (2019). A multi-approach study of the performance of dairy donkey during lactation: preliminary results. *It. J. Anim. Sci.* 18, 1135-1141.

- Tateo, A., Maggiolino, A., Padalino, B., Centoducati, P. (2013). Behavior of artificially suckled foals. *J. Vet. Behav.*, 8, 162-169.
- Valle, E., Pozzo, L., Giribaldi, M., Bergero, D., Gennero, M. S., Dezzutto, D., Mc Lean, A., Borreani G., Coppa M., Cavallarin, L. (2018). Effect of farming system on donkey milk composition. *J. Schi. Food Agric.*, 98, 2801-2808.
- Wilde, C. J., Quarrie, L. H., Tonner, E., Flint, D. J., Peaker, M. (1997). Mammary apoptosis. *Liv. Prod. Sci.*, 50, 29-37.

LA FRAZIONE LIPIDICA DEL LATTE DI ASINA

MINA MARTINI, IOLANDA ALTOMONTE, FEDERICA SALARI

Dipartimento di Scienze Veterinarie, Università di Pisa

Tra le specie che producono latte per il consumo umano, l'asina è una di quelle che presenta minori percentuali di grasso con valori medi variabili dallo 0,12 % (Licitra et al., 2019) al 1,7% (Guo et al., 2007). Essendo l'asino una specie poco selezionata per la produzione del latte è ipotizzabile che la variabilità della percentuale di grasso riscontrata nei diversi studi sia da imputare a differenze legate alla razza, all'individuo, alla fase di lattazione, alle tecniche di gestione degli animali, in particolare all'alimentazione, alla tecnica ed al numero di mungiture ed anche alla differente capacità di rilasciare il latte che potrebbe influire sulla variabilità del grasso osservata in questa specie.

In relazione a quanto detto, studi recenti (Valle et al., 2018) sembrano confermare l'effetto del tipo di alimentazione sulla quantità di grasso del latte, in particolare ad una maggiore quantità di erba fresca nella dieta corrisponderebbe una più alta percentuale di grasso; mentre l'influenza della fase di lattazione e della stagione di produzione sulla percentuale di grasso non è stata univocamente osservata dai vari autori (Tabella 1).

Tab. 1 - Percentuale di grasso nel latte d'asina e fattori di variabilità

Grasso (%)	Autori	Fase di lattazione	Stagione	Note riguardo al piano sperimentale		
				Razza	N° di soggetti	Mungitura
0,20-0,45	Salimei et al., 2004	NS	-	Martina Franca Ragusano	3+3	Meccanica, pool di tre mungiture
0,50-1,70	Guo et al., 2007	S	-	Jiangyue China	70	Meccanica, pool di quattro mungiture
0,28- 0,58	Giosuè et al., 2008	S	NS	Ragusana	24	Meccanica, pool di due mungiture
0,12-0,96	Ivanković et al., 2009	S	S	Littoral Dinaric	14	Manuale, una volta al giorno
0,42-0,72	Martemucci e D'Alessandro, 2012	S	-	Martina Franca	9	Meccanica, pool di due mungiture
0,11-0,21	Bordonaro et al., 2013	NS	NS	Ragusano	46	Meccanica, due volte al giorno
0,34-0,46	Martini et al., 2014a	NS	NS	Amiatina	31	Meccanica, una volta al giorno
0,49- 0,80	Salari et al., 2019	NS	-	Amiatina	22	Meccanica, una volta al giorno

S: statisticamente significativo; NS: non significativo

La ridotta presenza di lipidi rappresenta una peculiarità del latte d'asina che potrebbe essere sfruttata nella terapia dietetica del sovrappeso, delle dislipidemie e delle malattie su base arteriosclerotica.

Nel caso che il latte sia destinato all'alimentazione di bambini non svezzati, o comunque sotto l'anno di età, è da tenere presente che la bassa presenza di grasso richiede adeguate integrazioni lipidiche (Sarti et al., 2019). In base alle possibili applicazioni del latte d'asina, la variabilità della percentuale di grasso riscontrata potrebbe essere sfruttata per indirizzare diverse linee produttive e per questo andrebbe ulteriormente investigata.

IL GLOBULO DI GRASSO

Da punto di vista dello stato fisico, il grasso nel latte è disperso in una fase liquida sotto forma di globuli (MFG) di forma sferica. I MFG sono secreti dalla ghiandola mammaria e sono composti da un nucleo di trigliceridi circondato da una complessa struttura a tripla membrana (MFGM) con proprietà nutraceutiche, contenente lipidi polari, proteine specializzate, glicoproteine e colesterolo (Li et al., 2019).

I globuli di grasso secreti dalla ghiandola mammaria, in tutte le specie, hanno dimensioni diverse; quelli evidenziabili tramite microscopio a fluorescenza hanno una grandezza variabile da 0,2 (limite di risoluzione) a 15 μm . Le dimensioni medie dei MFG sono influenzate da fattori endogeni come la specie e la razza, da fattori fisiologici quali l'ordine di parto e lo stadio di lattazione e da fattori esogeni quali l'alimentazione (Martini et al., 2016).

Il diametro medio dei MFG sembrerebbe correlato positivamente al contenuto lipidico del latte (Wiking et al., 2004). A tal proposito è stato ipotizzato che, nelle specie ad elevata secrezione di grasso, la formazione del globulo comporterebbe un notevole dispendio di membrana da parte della cellula epiteliale mammaria, quindi la formazione di globuli più grandi permetterebbe di ridurre la quantità di membrana persa dalla cellula per volume unitario di grasso secreto, essendo questa una secrezione apocrina.

In linea a quanto detto, data la bassa percentuale di grasso, nel latte d'asina i MFG hanno un diametro medio variabile tra 1,92 e 2,62 μm (Martini et al. 2014b; Martini et al., 2015) più piccolo rispetto a quello dei ruminanti (2,5-5 μm) e a quello di donna (4 μm) (Martini et al., 2015; Fleming et al., 2017).

Le dimensioni dei MFG sembrano influenzare la cinetica digestiva del latte (Martini et al., 2016). Infatti, un diametro piccolo dei MFG determina una superficie più grande per unità di volume del grasso disponibile per l'azione delle lipasi gastriche e questo potrebbe contribuire alla digeribilità più rapida del latte d'asina.

I MFG più piccoli, come quelli del latte d'asina, presentano inoltre maggiore quantità di MFGM e dei suoi componenti per unità di volume del grasso, contribuendo quindi all'apporto di colesterolo, fosfolipidi e PUFA.

Ad oggi, tra gli effetti di variabilità che possono influenzare le caratteristiche morfometriche dei globuli di grasso del latte d'asina, sono stati indagati solo l'effetto della fase di lattazione e della stagione di produzione. Martini et al. (2015) riportano un numero di globuli/mL significativamente minore a fine lattazione, mentre un diametro medio maggiore ed un minor numero di globuli/mL sono stati rilevati in inverno rispetto alle altre stagioni.

TRIGLICERIDI

I trigliceridi del latte d'asina rappresentano circa l'80-85% dei lipidi, diversamente da altri lattati di specie zootecniche e dal latte umano in cui variano tra il 98 ed il 95% (Uniak-Lowe e Fox, 2012; Altomonte et al., 2019).

I trigliceridi del latte d'asina sono composti da catene aciliche di lunghezza compresa tra 30 a 54 atomi di carbonio (Gastaldi et al., 2010) e la posizione degli acidi grassi sullo schele-

tro di glicerolo è molto simile a quella del latte umano, ad esempio il C16:0 (acido palmitico) è presente principalmente in sn-2. Questo tipo di esterificazione ne consente un assorbimento più efficace, ciò risulta importante dato che questo acido grasso è un componente essenziale del tessuto nervoso, agisce nella secrezione e nel trasporto dei lipidi e nella formazione di molecole segnale (Innis, 2016).

Inoltre, il contenuto relativamente elevato di trigliceridi a catena media (MCT) del latte d'asina fa sì che il suo grasso, sebbene quantitativamente modesto, sia altamente biodisponibile (Gastaldi et al., 2010). Infatti, i MCT, costituiti da acidi grassi a corta e media catena, sono una fonte di energia rapidamente disponibile, in particolare per i pazienti con malassorbimento, nonché per i neonati prematuri (Łoś-Rycharska et al., 2016).

I trigliceridi del latte d'asina hanno inoltre un grado elevato di insaturazione e sono dunque una buona fonte di acidi grassi polinsaturi (PUFA).

LIPIDI POLARI

I fosfolipidi nel latte d'asina sono presenti in quantità di circa 1,14-2,14 g/100g di grasso, tuttavia, dato il basso contenuto di grassi, è stato stimato che mediamente l'apporto di fosfolipidi per 100 mL di latte sia compreso tra 4,28 e 9,71 mg. I fosfolipidi ad oggi identificati nel latte d'asina sono i glicerofosfolipidi, gli sfingofosfolipidi e le ceramidi. La composizione dei glicerofosfolipidi del latte d'asina è simile a quella delle altre specie di mammiferi, costituiti principalmente da fosfatidiletanolamina e fosfatidilcolina (Contarini et al., 2017).

Il contenuto di sfingofosfolipidi, costituiti principalmente da sfingomielinina, è inferiore a quello dei glicerofosfolipidi (Contarini et al., 2017) ed è più basso nel latte d'asina rispetto al latte umano (Benoit et al., 2010; Giuffrida et al., 2013). I contenuti di sfingomielinina e fosfatidilcolina sono considerati di grande importanza per lo sviluppo dei neonati in quanto apportano colina, necessaria per la crescita degli organi e la biosintesi delle membrane. Le differenze nel contenuto di grasso, nel tipo e nella quantità di fosfolipidi per volume di latte potrebbero implicare assunzioni diverse di colina tra latte umano e latte d'asina. Tuttavia, mancano raccomandazioni nutrizionali per quanto riguarda i fosfolipidi nel campo della nutrizione infantile e rimangono ancora da stabilire le dosi efficaci che garantiscono una crescita ottimale e benefici per la salute dei neonati.

Il latte d'asina contiene anche ceramidi (GluCe and LacCer in media 0,90 e 1,76 mg/ 100 g di grasso rispettivamente) in quantità maggiore rispetto ad altre specie in cui sono state occasionalmente rilevati come componenti minori (Contarini et al., 2017)

COLESTEROLO E ALTRI STEROLI

Il colesterolo è il principale sterolo del latte, componente essenziale per il corretto sviluppo del cervello e del sistema endocrino, costituente delle membrane biologiche e precursore della vitamina D, degli ormoni steroidei e degli acidi biliari. Il colesterolo è stato collegato a problemi per la salute umana negli adulti, anche se l'associazione diretta tra colesterolo alimentare e lipoproteine a bassa densità è ancora controversa (Zhu et al., 2018).

In termini di colesterolo per unità di volume di latte, l'asina ha un contenuto inferiore rispetto ad altre specie zootecniche, data la bassa percentuale di grassi. Tuttavia, se si considera il contenuto di colesterolo per 100 g di grasso (Tabella 2), i dati disponibili in letteratura riportano valori medi di 0,41 g/100 g di grasso (Contarini et al., 2017) e di 0,97 g/100 g di grasso (Martini et al., in corso di pubblicazione), risultando superiore rispetto a vacca, pecora e donna (Precht, 2001; Goudjil et al., 2003; Yao et al., 2016).

I pochi studi relativi agli steroli nel latte d'asina non hanno registrato variabilità del contenuto di colesterolo né per effetto della lattazione, né della stagione, anche se un effetto della fase di lattazione è stato riportato in altre specie Faye et al. (2015).

Per quanto riguarda gli steroli minori, uno studio (Martini et al., in corso di pubblicazione) ha per la prima volta identificato nel latte d'asina lanosterolo e desmosterolo ed ha evidenziato la presenza di steroli vegetali bioattivi derivanti dall'alimentazione degli animali (campesterolo, stigmasterolo, β -sitosterolo e brassicasterolo).

ALTRI COMPONENTI MINORI DELLA FRAZIONE LIPIDICA

Nella frazione lipidica del latte sono presenti molti composti liposolubili, come ormoni steroidei, vitamine, prostaglandine e composti aromatici (Alichanidis et al., 2016); questi ultimi ne caratterizzano la qualità organolettica.

I composti volatili che caratterizzano il latte d'asina fresco sono il 2-eptanone, il 1,3-bis (1,1-dimetiletil) -benzene, il nonanal, il D-limonene, l'acido ottanoico e 1-ottanolo (Vincenzetti et al., 2018). È stato evidenziato che, fornendo alle asine foraggio fresco rispetto al fieno, predomina la componente aromatica caratterizzata da alcoli aldeidi C6 e C9, e da beta-pinene, beta-mircene, limonene, p-cimene e gamma-terpinene, che danno al latte un aroma erbaceo caratteristico (Chiofalo et al., 2005).

Per quanto riguarda le vitamine liposolubili, il latte d'asina è ricco di vitamina D (vitamina D2: 1,68, vitamina D3: 0,60 $\mu\text{g}/100\text{ mL}$) presente in quantità superiore al latte di vacca e materno (Martini et al., 2018a); mentre il contenuto di retinolo (0,009–58,6 $\mu\text{g}/100\text{ mL}$) (Gentili et al., 2013; Valle et al., 2018) è inferiore rispetto al latte umano. Sono presenti inoltre quantità di α -tocoferolo per il quale in letteratura è stato riportato un ampio range variabilità (da 0,0003 a 0,807 mg/L di latte).

Sia per il contenuto di retinolo che per l' α -tocoferolo è stata riportata una variabilità in relazione al sistema di allevamento, ma nessuna variazione durante la lattazione. Inoltre, una variabilità del contenuto della vitamina D3 è stata osservata nel corso della stagione in animali allevati all'aperto, con contenuti maggiori durante la stagione primaverile-estiva (Martini et al., 2018a)

Tab. 2 - Frazioni lipidiche e caratteristiche morfometriche del globulo di grasso del latte d'asina

	Minimi	Massimi
Trigliceridi (g/100g di lipidi)	80,0	85,0
Fosfolipidi (g/100 g di lipidi)	1,14	2,14
Colesterolo (g/100 g di lipidi)	0,41	0,97
Globuli/mL (numero $\times 10^9$)	0,6	2,4
Diametro medio globuli (μm)	1,91	2,62

(Martini et al., 2015, Contarini et al., 2017; Martini et al., in corso di pubblicazione)

GLI ACIDI GRASSI

Il profilo acidico del latte d'asina risulta più simile a quello del latte umano rispetto a quello dei ruminanti (Altomonte et al., 2019). Infatti, seppur con una certa variabilità, nel latte d'asina si trovano concentrazioni più elevate di acidi grassi monoinsaturi (MUFA) e di polinsaturi (PUFA) (g/100g di grasso) rispetto alle altre specie di interesse zootecnico,

ed il rapporto insaturi/saturi tende a 1 (Tabella 3), diversamente dai poligastrici in cui gli acidi grassi insaturi della dieta, per effetto della saturazione ruminale, vengono ritrovati in minori quantità.

Fra le similarità con il latte umano si evidenzia una bassa quantità di acidi grassi a corta catena (SCFA) ed un'elevata quantità di acidi grassi a lunga catena. Tra le SCFA gli acidi grassi più rappresentati sono il C8:0 ed il C10:0 come nel latte di donna (Altomonte et al. 2019).

Questa caratteristica è importante per la nutrizione infantile in quanto la presenza o carenza degli SCFA influenza la patogenesi di alcune malattie (autoimmuni, metaboliche e neurologiche), inoltre gli SCFA sembrano avere anche effetti antimicrobici ed attività antinfiammatoria nell'intestino (Tan et al., 2014).

Fra i saturi (SFA), il C16:0 è il più rappresentato, mentre, il C18:0 è presente in basse quantità rispetto ai ruminanti; questo potrebbe essere dovuto all'assenza, nei monogastrici, delle fermentazioni ruminali che portano alla saturazione degli insaturi assunti con la dieta.

In relazione agli acidi grassi insaturi, i più rappresentati, come nel latte umano, sono l'acido oleico (C18:1 cis 9) ed il linoleico (C18:2 cis 9,12). L'acido alfa linolenico (ALA C18:3 n3) è il terzo acido grasso insaturo più rappresentato nel latte d'asina con un contenuto (g/100g di grasso) circa 6 volte superiore a quello del latte umano e valori maggiori rispetto alle altre specie allevate per la produzione di latte per il consumo umano.

Un litro di latte d'asina fornisce circa 0,4 g di ALA similmente al latte materno, pertanto, può essere considerato una buona fonte di questo acido grasso omega 3 che è essenziale ed indispensabile nei bambini per una crescita adeguata, per lo sviluppo neurologico e per la salute del sistema cardiovascolare (Altomonte et al., 2019).

Mentre l'ALA rappresenta il principale omega 3 del latte d'asina, gli omega 3 a catena più lunga quali EPA (C20:5 n3) e DHA (C22:6 n3) sono presenti in quantità minori.

In media l'EPA è maggiore rispetto sia al latte umano che a quello bovino, e il DHA, quasi nullo nel latte bovino, nel latte d'asina è circa la metà rispetto al latte di donna (Martini et al., 2018b). Da segnalare che nel latte umano è stata riscontrata un'ampia variabilità del DHA in relazione l'alimentazione (<0.1 to >1 g 100g di grasso) (Yuhás et al., 2006; Jackson et al., 2016).

Il DHA è un costituente della retina e del sistema nervoso e ha un indispensabile ruolo nelle membrane neuronali. Nei neonati e nei bambini tra 6 e 24 mesi di età sono consigliati 0,10 g di DHA/giorno (EFSA, 2010) e dato il basso apporto di grassi totali del latte di asina, sarebbe opportuno un arricchimento di DHA, specialmente per i bambini in pre-svezzamento (Altomonte et al., 2019).

Per quanto riguarda gli omega 6, il contenuto di acido arachidonico (C20:4), importante per le membrane cellulari, è mediamente comparabile a quello del latte materno (Koletzko et al., 2001).

Analizzando i valori medi presenti in letteratura (Tabella 3) è riscontrabile una certa variabilità del profilo acidico, soprattutto a carico del contenuto di ALA, C18:1 cis9 e C18:2 n-6.

In relazione a questo, tra i fattori in grado di influenzare il profilo acidico del latte di asina, il sistema di allevamento, ed in particolare l'alimentazione, ha effetti più incisivi rispetto alla fase di lattazione. È stato osservato inoltre che, quando le asine vengono alimentate con erba fresca al pascolo, il profilo acidico del latte migliora in termini di aumento nella concentrazione di acidi grassi favorevoli per la salute umana (C18:1 cis 9, ALA, omega-3 totali e PUFA) e diminuzione di acidi grassi meno favorevoli, come quelli saturi (Valle et al., 2018).

Tab. 3 - Classi e principali acidi grassi di interesse nutrizionale calcolati dalla letteratura

Acidi grassi (AG)	Minimi	Massimi
Saturi (g/100 g di lipidi)	51,07	52,81
C8:0	3,56	5,40
C10:0	8,11	10,21
C12:0	7,66	9,32
C14:0	5,77	6,63
C16:0	19,54	22,10
C18:0	1,00	1,66
Monoinsaturi (g/100 g di lipidi)	24,84	29,04
C18:1 cis 9	16,67	23,06
Polinsaturi (g/100 g di lipidi)	19,10	22,35
C18:2 n-6	6,94	12,38
C18:3 n-3	4,95	14,26
C20:4 n-6	nd	0,09
C20:5 n-3	nd	0,5
C22:6 n-3	nd	0,08
INSATURI	47,19	48,50
INSATURI:SATURI	0,89	0,94

Martemucci e D'Alessandro 2012; Massouras et al., 2017; Valle et al., 2018; Sarti et al., 2019

BIBLIOGRAFIA

- Alichanidis E., Moatsou G., Polychroniadou A. (2016) Composition and properties of non-cow milk and products. In: Tsakalidou E, Papadimitriou K (eds) Non-bovine milk and milk products. Academic Press, Amsterdam, 81-115.
- Altomonte I., Salari F., Licitra R., Martini M. (2019) Donkey and human milk: Insights into their compositional similarities. *Int Dairy J*, 89, 111-118.
- Benoit B., Fauquant C., Daira P., Peretti N., Guichardant M., Michalski M.C. (2010) Phospholipid species and minor sterols in French human milks. *Food Chemistry* 120, 684-691.
- Bordonaro S., Dimauro C., Criscione A., Marletta D., Macciotta N.P.P. (2013) The mathematical modeling of the lactation curve for dairy traits of the donkey (*Equus asinus*). *J Dairy Sci*, 96, 4005-4014.
- Chiofalo B., Polidori M., Costa R., Salimei E. (2005) Fresh forage in dairy ass's ration: effect on milk fatty acid composition and flavours. *Ital J Anim Sci*, 4 (2), 433-435.
- Contarini G., Pelizzola V., Scurati S., Povolò M. (2017) Polar lipid of donkey milk fat: Phospholipid, ceramide and cholesterol composition. *J Food Compos Anal*, 57, 16-23.
- EFSA, (2010) Panel on Dietetic Products Nutrition and Allergies (NDA). Scientific opinion on dietary reference values for fats, including saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, trans fatty acids, and cholesterol. *EFSA Journal*, 8(3):1461.
- Faye B., Bengoumi M., Al-Masaud A., Konuspayeva G. (2015) Comparative milk and serum cholesterol content in dairy cow and camel. *J King Saud Univ Sci*, 27, 168-175.
- Fleming A., Schenkel F.S., Koeck A., Malchiodi F., Ali R.A., Corredig M., Mallard B., Sargolzaei M., Miglior F. (2017) Heritabilities of measured and mid-infrared predicted

- milk fat globule size, milk fat and protein percentages, and their genetic correlations. *J Dairy Sci*, 100 (5), 3735-3741.
- Gastaldi D., Bertino E., Monti G., Baro C., Fabris C., Lezo A., Medana C., Baiocchi C., Mussap M., Galvano F., Conti A. (2010) Donkey's milk detailed lipid composition. *Front Biosci*, 2(2), 537-546.
- Gentili A., Caretti F., Bellante S., Ventura S., Canepari S., Curini R. (2013) Comprehensive profiling of carotenoids and fat-soluble vitamins in milk from different animal species by LC-DAD-MS/MS hyphenation. *J Agr Food Chem*, 61, 1628-1639.
- Giosuè C., Alabiso M., Russo G., Alicata M., Torrisi C. (2008) Jennet milk production during the lactation in a Sicilian farming system. *Animal*, 2, 1491-1495.
- Giuffrida F., Cruz-Hernandez C., Flück B., Tavazzi I., Thakkar S., Destaillets F., Braun M. (2013) Quantification of phospholipids classes in human milk. *Lipids*, 48, 1051-1058.
- Goudjil H., Torrado S., Fontecha J., Martínez-Castro I., Fraga M.J., Juárez M. (2003) Composition of cholesterol and its precursors in ovine milk. *Lait*, 83, 153-160.
- Guo H.Y., Pang K., Zhang X.Y., Zhao L., Chen S.W., Dong M.L., Ren F.Z. (2007) Composition, physicochemical properties, nitrogen fraction distribution, and amino acid profile of donkey milk. *J Dairy Sci*, 90 (4), 1635-1643.
- Innis S.M. (2016). Palmitic acid in early human development. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56, 1952-1959.
- Ivanković A., Ramljak J., Štulina I., Antunac N., Bašić I., Kelava N. (2009) Characteristics of the lactation, chemical composition and milk hygiene quality of the Littoral-Dinaric ass. *Mljekarstvo*, 59, 107-113.
- Jackson K.H., Polrei, J., Sanborn L., Chaima D., Harris W.S. (2016) Analysis of breast milk fatty acid composition using dried milk samples. *Int Breastfeed J*, 11, 1.
- Koletzko B., Agostoni C., Carlson S.E., Clandinin T., Hornstra G., Neuringer M., Uauy R., Yamashiro Y., Willatts P. (2001) Long chain polyunsaturated fatty acids (LC-PUFA) and perinatal development. *Acta Paediatr*, 90(4), 460-4.
- Li W., Li M., Cao X., Yang M., Han H., Kong F., Yue X. (2019) Quantitative proteomic analysis of milk fat globule membrane (MFGM) proteins from donkey colostrum and mature milk. *Food Funct*, 10, 4256-4268.
- Licitra R., Li J., Liang X., Altomonte I., Salari F., Yan J., Martini M. (2019) Profile and content of sialylated oligosaccharides in donkey milk at early lactation. *LWT*, 115.
- Łoś-Rycharska E., Kierasiewicz Z., Czerwionka-Szaflarska M. (2016) Medium chain triglycerides (MCT) formulas in paediatric and allergological practice. *Przegląd Gastroenterologiczny*, 11, 226-231.
- Martemucci G., D'Alessandro A.G. (2012) Fat content, energy value and fatty acid profile of donkey milk during lactation and implications for human nutrition. *Lipids in Health and Disease*, 11, 113-126.
- Martini M., Altomonte I., Salari F., Caroli A.M. (2014a) Short communication: Monitoring nutritional quality of Amiata donkey milk: Effects of lactation and productive season. *J Dairy Sci*, 97, 6819-6822.
- Martini M., Altomonte I., Salari F. (2014b) Amiata donkeys: fat globule characteristics, milk gross composition and fatty acids. *Ital J Anim Sci*, 13, 123-126.
- Martini M., Altomonte I., Manica E., Salari F. (2015) Changes in donkey milk lipids in relation to season and lactation. *J Food Compos Anal*, 41, 30-34.
- Martini M., Salari F., Altomonte I. (2016) The Macrostructure of Milk Lipids: The Fat Globules. *Crit Rev Food Sci*, 56(7), 1209-1221.
- Martini M., Altomonte I., Licitra R., Salari F. (2018a) Short communication: Technological and seasonal variations of vitamin D and other nutritional components in donkey milk. *J Dairy Sci*, 101 (10), 8721-8725.

- Martini M., Altomonte I., Licitra R., Salari F. (2018b) Nutritional and Nutraceutical Quality of Donkey Milk. *J Equine Vet Sci*, 65, 33-37.
- Martini M., Altomonte I., Licitra R., Bartaloni F.V., Salari F. (in corso di pubblicazione). A preliminary investigation into the unsaponifiable fraction of donkey milk: sterols of animal origin, phytosterols and tocopherols. *J. Dairy Sci*.
- Massouras T., Triantaphyllopoulos K.A., Theodossiou I. (2017) Chemical composition, protein fraction and fatty acid profile of donkey milk during lactation. *Int Dairy J*, 75, 83-90.
- Precht, D. (2001). Cholesterol content in European bovine milk fats. *Nahrung/Food*, 45, 2-8.
- Salari F., Ciampolini R., Mariti C., Millanta F., Altomonte I., Licitra R., Auzino B., D'Ascenzi C., Bibbiani C., Giuliotti L., Papini R.A., Martini M. (2019) A multi-approach study of the performance of dairy donkey during lactation: preliminary results. *Ital J Anim Sci*, 18, 1135-1141.
- Salimei E., Fantuz F., Coppola R., Chiofalo B., Polidori P., Varisco G. (2004) Composition and characteristics of ass's milk. *Anim Res*, 53, 67-78.
- Sarti L., Martini M., Brajon G., Barni S., Salari F., Altomonte I., Ragona G., Mori F., Pucci N., Muscas G., Belli F., Corrias F., Novembre E. (2019) Donkey's Milk in the Management of Children with Cow's Milk protein allergy: nutritional and hygienic aspects. *Ital J Pediatr*, 45(1):102.
- Tan J., McKenzie C., Potamitis M., Thorburn A.N., Mackay C.R., Macia L. (2014) Chapter Three - The Role of Short-Chain Fatty Acids in Health and Disease, Editor(s): Frederick W. Alt, *Advances in Immunology*, Academic Press, 121, 91-119.
- Uniacke-Lowe T., Fox P.F. (2012) Equid milk: chemistry, biochemistry and processing. In: Simpson, B.K. (Ed.), *Food Biochemistry and Food Processing*, 2nd ed. Wiley-Blackwell Ames, IA (USA), 491-530.
- Valle E., Pozzo L., Giribaldi M., Bergero D., Gennero M.S., Dezzuto D., McLean A., Borreani G., Coppa M., Cavallarin L. (2018) Effect of farming system on donkey milk composition. *J Sci Food Agr*, 98, 2801-2808.
- Vincenzetti S., Cecchi T., Perinelli D.R., Pucciarelli S., Polzonetti V., Bonacucina G., Ariani A., Parrocchia L., Spera D.M., Ferretti E., Vallesi P., Polidori P. (2018) Effects of freeze-drying and spray-drying on donkey milk volatile compounds and whey proteins stability. *LWT*, 88, 189-195.
- Wiking L., Stagsted J., Björck L., Nielsen J.H. (2004) Milk fat globule size is affected by fat production in dairy cows. *Int Dairy J*, 14, 909-913.
- Yao Y., Zhao G., Xiang J., Zou X., Jin Q., Wang X. (2016) Lipid composition and structural characteristics of bovine, caprine and human milk fat globules. *Int Dairy J*, 56, 64-73.
- Yuhus R., Pramuk K., Lien E.L. (2006) Human milk fatty acid composition from nine countries varies most in DHA. *Lipids*, 41(9), 851-857.
- Zhu Z., Zheng Z., Zhang F., Wu Y., Trzaskowski M., Maier R., Robinson M.R., McGrath J.J., Visscher P.M., Wray N.R. and Yang J. (2018) Causal associations between risk factors and common diseases inferred from GWAS summary data. *Nat Commun*, 9, 224.

NUCLEOTIDI NEL LATTE DI ASINA

SILVIA VINCENZETTI¹, PAOLA DI GIROLAMI², PAOLO POLIDORI²

¹ *Scuola di Bioscienze e Medicina Veterinaria, Università di Camerino*

² *Scuola di Scienze del Farmaco e dei Prodotti della Salute, Università di Camerino*

INTRODUZIONE

I nucleotidi sono dei glicosidi formati dall'unione di uno zucchero a 5 atomi di carbonio (ribosio o desossiribosio) con una base azotata (purinica o pirimidinica) e con l'acido fosforico. Questi composti si trovano in natura come prodotti intermedi del metabolismo cellulare (ATP, ADP, AMP, GTP ecc.). Derivano anche dalla degradazione degli acidi nucleici, da cui si originano per azione di nucleasi specifiche. Per idrolisi parziale, a opera di nucleotidasi che staccano il radicale fosforico, dai n. prendono origine i nucleosidi. Gli enzimi che scindono il legame fra la base azotata e lo zucchero del nucleoside sono le nucleosidasi. I nucleotidi hanno importanza fondamentale nel metabolismo energetico (ATP, ADP, GTP) e, alcuni di essi, svolgono un ruolo particolare nella trasmissione dei messaggi ormonali (AMP, GMP, AMP ciclico ecc.).

I nucleotidi sono delle unità ripetitive costitutive degli acidi nucleici (DNA e RNA). Chimicamente, come accennato in precedenza, sono costituiti da tre molecole:

- una base azotata, purinica o pirimidinica;
- uno zucchero a cinque atomi di carbonio (zucchero pentoso), che insieme alla base azotata costituisce un nucleoside;
- un gruppo fosfato (residuo fosforico) che, insieme al nucleoside, completa il nucleotide.

Le basi puriniche sono guanina e adenina, nel DNA come nell'RNA; le basi pirimidiniche sono citosina e timina nel DNA, citosina e uracile, nell'RNA; lo zucchero pentoso è il ribosio nell'RNA ed il desossiribosio nel DNA. La presenza del residuo fosforico conferisce carattere fortemente acido ai nucleotidi; per questo i loro nomi alternativi sono acido adenilico, acido guanilico, acido citidilico e acido uridilico. Nel DNA i nucleotidi (desossinucleotidi) prendono il nome di acido desossiadenuilico, acido desossiguanilico, acido desossicitidilico e acido desossitimidilico. L'aggiunta di uno o due altri residui fosforici nella catena produce i nucleosidi difosfato e trifosfato (NDP e NTP), fondamentali nel metabolismo energetico della cellula. I più importanti sono ADP e ATP, rispettivamente adenosina difosfato e adenosina trifosfato. Il passaggio da tri- a di- avviene tramite una reazione di idrolisi esoergonica con conseguente liberazione di energia che la cellula può utilizzare per le sue attività.

I nomi dei nucleotidi sono abbreviati in codici standard di tre o quattro lettere. Un'eventuale "d" iniziale sta per "desossi-", cioè indica che il nucleotide in questione è un desossiribonucleotide, come nel DNA; nel caso di un ribonucleotide semplicemente non è presente la "d", come nell'RNA. La seconda lettera indica il nucleoside presente, e precisamente:

- G sta per guanosina, corrispondente alla base azotata guanina
- A sta per adenosina, corrispondente alla base azotata adenina
- T sta per timidina (che non essendo presente nell'RNA, dove viene sostituita dall'uridina, è un desossinucleoside), corrispondente alla base azotata timina
- C sta per citidina, corrispondente alla base azotata citosina
- U sta per uridina (che non è presente nel DNA e prende il posto della timidina nell'RNA), corrispondente alla base azotata uracile

La terza lettera indica la lunghezza della catena di gruppi fosfato attaccata al carbonio 5' dello zucchero. Nel DNA e nell'RNA c'è un solo gruppo fosfato per unità ripetitiva, quindi si utilizza solo il prefisso mono-, abbreviato in M; nella reazione di una DNA o di una RNA polimerasi, invece, ogni desossinucleotide in ingresso nella catena in costruzione è trifosfato, quindi nell'indicarlo si usa il prefisso tri-, abbreviato in T. La quarta lettera indica la presenza di gruppi fosfato (P). Ad esempio, la desossicitidina 5'-monofosfato è abbreviata con dCMP; la d perché è un desossiribonucleotide, la C perché la base azotata contenuta è la citosina, "MP" perché lo zucchero presente (il desossiribosio) è monofosfato al carbonio 5'.

IL LATTE

Il latte umano contiene, in giuste proporzioni, tutti gli elementi necessari all'organismo cui è naturalmente destinato e, anche quando proviene da specie animali diverse, rappresenta sempre un alimento ad elevato valore nutritivo. I componenti del latte dei diversi mammiferi sono qualitativamente gli stessi, ma si riscontrano notevoli differenze a livello quantitativo nei diversi componenti, nell'ambito delle varie specie. Il volume e la composizione del latte umano sono variabili da donna a donna ed anche nella stessa donna variano in base al periodo di lattazione, ed anche durante la crescita del bambino, adattandosi alle sue esigenze nutritive (Emmet & Rogers, 1997) Il latte prodotto nei primi giorni che seguono la nascita (colostro) è molto ricco in proteine, vitamine e immunoglobuline, rispetto al latte maturo, tuttavia, risulta essere povero in grassi, quindi, meno energetico. Trascorsa la prima settimana dal parto, il latte è detto di transizione e può essere definito maturo solo dopo 10 giorni dalla nascita (Tabella 1).

Tab. 1 - Composizione chimica latte umano (g/100g)

	Proteine	Lipidi	Lattosio	Sodio (mEq)
Colostro	2,7	2,0	5,0	2,1
Latte transizione	1,6	2,8	6,5	0,6
Latte maturo	1,1	3,2	7,0	0,7

Fonte: Evangelisti e Restani, 2011.

Il latte umano contiene anche azoto non proteico in concentrazione elevata (maggiore che nel latte vaccino); in questa quota sono compresi: l'urea, l'acido urico, la creatinina, gli aminoacidi liberi, quali taurina e acido glutammico, gli ormoni peptidici, gli acidi nucleici ed i nucleotidi. Esso deriva principalmente da quello presente nel sangue della madre ed il suo contenuto è pressoché costante durante tutte le fasi della lattazione. Il significato biologico dell'azoto non proteico non è chiaro, ma si pensa che sia importante, nelle sue varie forme, per lo sviluppo del neonato. (Carlson, 1985)

NUCLEOTIDI NEL LATTE

Il latte è il materiale biologico di cui si va scoprendo una complessità sempre maggiore. La sopravvivenza dei piccoli che assumono latte come unico loro cibo provoca una forte pressione selettiva sulla evoluzione genetica e biochimica dell'allattamento, portando alla comparsa di componenti che promuovono la salute e la sopravvivenza (Biasini et al., 2011). Nel complesso sistema biologico del latte umano sono infatti presenti fattori nutrienti "essenziali" e vantaggiosi sia al bambino che alla madre, ma anche una miriade di fattori bioattivi che, pur

non essenziali dal punto di vista nutritivo, sono causa di vantaggi biologici promuovendo la crescita tessutale, stimolando o regolando il sistema immunologico, esercitando un'attività diretta sui microrganismi (German et al., 2005).

I nucleotidi sono presenti nella quota azotata non proteica del latte materno (10-29 mg/L pari a 1-4 mg/100 kcal); sono metaboliti di vitale importanza in quanto implicati in molte funzioni cellulari (Di Tommaso et al., 2006). Sono sintetizzati nella cellula a partire da precursori quali aminoacidi, ribosio, formiato e CO₂. Costituiscono i precursori monomerici degli acidi nucleici (DNA e RNA), sono componenti di diversi coenzimi (NAD, NADP, FAD, CoA) e rappresentano preziose riserve di energia (ATP). Infine giocano un ruolo importante nella funzione immune, incrementando l'attività dei linfociti T e dei Natural Killer e favoriscono i normali processi di sviluppo, maturazione e riparazione del tratto gastrointestinale (Uauy et al., 1994). In particolari situazioni metaboliche, quali un rapido ritmo di crescita oppure una malattia, la richiesta di nucleotidi eccede la loro capacità di sintesi. Questa condizione si verifica spesso nei neonati, ed è la ragione per la quale vengono arricchiti con nucleotidi le formule di latte in polvere per la prima infanzia (Carver, 1999).

Il CODEX Alimentarius non annovera i nucleotidi tra i componenti necessari delle formule adattate. L'ESPGHAN (European Society for Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition) invece raccomanda che l'aggiunta opzionale dei nucleotidi nei lattini artificiali non superi i 5 mg/100 kcal, pari a 30-35 mg/L (Koletzko et al., 2005), con le seguenti dosi per ciascun singolo nucleotide:

- 1.75 mg/100 kcal di 5'CMP;
- 1.5 mg/100 kcal di 5'UMP;
- 1.5 mg/100 kcal di 5'AMP;
- 0.5 mg/100 kcal di 5'GMP;
- 1 mg/100 kcal di 5'IMP.

Dosi superiori a quelle raccomandate sono state associate a maggiore rischio di infezioni respiratorie. EFSA precisa che la presenza di nucleotidi, in quantità pari a circa 10mg/100 Kcal nel latte materno, non è associata a un beneficio specifico, giungendo alla conclusione che non è necessario aggiungere nucleotidi ai lattini artificiali (EFSA, 2014).

IL LATTE DI ASINA

Il latte di asina, oltre che per la formulazione di prodotti quali saponi e creme le cui proprietà terapeutiche ed estetiche sono note fin dall'antichità, recentemente assume una particolare importanza anche per l'alimentazione umana, in particolar modo per quella neonatale nei casi, sempre più diffusi, di allergie multiple (Polidori et al., 2015). L'utilizzo del latte di asina quale succedaneo del latte di donna trova un supporto obbiettivo nel suo livello quantitativo in macronutrienti, in particolare proteine e glucidi, più vicino al latte umano che non a quello bovino (Vincenzetti et al., 2017).

Un'altra peculiarità compositiva che rende tale latte più simile a quello di donna, rispetto al più usato latte bovino nella produzione delle formule, è il livello di NPN, l'azoto non proteico, presente in dose di 0,23 mg/L nel latte di asina rispetto a 0,34 mg/L nel latte di donna. Come è noto esso è costituito in gran parte da peptidi derivanti all'idrolisi delle caseine per attività enzimatiche endogene e che svolgono diverse bioattività tra le quali quella antiossidante (Ramunno et al., 2011). Tra i costituenti della quota di NPN presente nel latte di asina, uno studio ha determinato il contenuto di nucleotidi e di nucleosidi in questo latte (Vincenzetti et al., 2014).

NUCLEOTIDI E NUCLEOSIDI NEL LATTE DI ASINA

Numerosi studi hanno dimostrato che i bambini alimentati con un latte artificiale integrato con nucleotidi mostrano una risposta immunitaria molto simile a quella dei neonati allattati al seno, suggerendo così che queste molecole normalmente presenti nel latte umano svolgano un ruolo importante nel sistema immunitario di neonati. Alla luce di ciò sono stati condotti numerosi studi per determinare la quantità di nucleosidi e nucleotidi nel latte umano in modo da utilizzarne le medesime quantità nelle formulazioni per neonati (Janas & Picciano, 1982; Liao et al., 2011). Altri studi sono stati condotti per determinare la concentrazione di questi composti nel latte bovino, ovino e caprino (Gill et al., 2011; Plakantara et al., 2010). Come già accennato, il latte d'asina può essere considerato un valido sostituto del latte materno se non è possibile allattare al seno o se il neonato soffre di APLV. Tuttavia, al momento, in letteratura vi è solo uno studio riguardante la determinazione dei nucleotidi e nucleosidi nel latte di asina (Vincenzetti et al., 2014). I risultati di questo studio mostrano che nel latte di asina sono presenti buone concentrazioni di uridina e di guanosina ($44,46 \pm 1,79$ e $20,72 \pm 1,55$ mM, rispettivamente) citidina e adenosina sono anche esse presenti ma con una concentrazione più bassa: $6,58 \pm 1,72$ e $1,29 \pm 0,081$ mM, rispettivamente (Tabella 2). Se si confrontano i dati ottenuti sui nucleosidi nel latte di asina con i dati già esistenti in letteratura (Tabella 2) sui nucleotidi presenti nel latte umano (Lio et al., 2011), si può osservare come nel latte d'asina la concentrazione di uridina è di circa 10 volte più elevata rispetto al latte umano mentre è molto più simile alla concentrazione di uridina presente nel latte bovino ($21,8 \pm 3,7$ mM; Gil et al., 1995).

Tab. 2 - Concentrazione dei nucleosidi nel latte di asina e confronto con il latte umano

Nucleoside	Latte di asina (mM)	Latte umano (mM)*
Adenosina	1.29 ± 0.081	0.18 ± 0.28
Cytidina	6.58 ± 1.72	9.25 ± 5.26
Guanosina	20.72 ± 1.55	0.36 ± 0.24
Inosina	Trace	0.23 ± 0.23
Uridina	44.46 ± 1.79	6.33 ± 3.74

Fonte: Vincenzetti et al., 2014. *Liao et al., 2011.

L'uridina nella dieta è molto importante in quanto può aumentare i fosfatidi cerebrali, le proteine sinaptiche, l'espansione dei neuriti e la formazione delle spine dendritiche (Wurtman et al., 2010). Altri autori (Carlezon et al., 2005) hanno dimostrato che una co-somministrazione di uridina e acidi grassi omega-3 ha un effetto antidepressivo nei ratti. Inoltre, la somministrazione orale di uridina orale è stata utilizzata in soggetti adulti affetti da depressione e adolescenti con disturbo bipolare (Kondo et al., 2011). Nel latte d'asina il contenuto di guanosina ($20,72 \pm 1,55$ mM) è circa 20 volte superiore a quella osservata nel latte umano mentre l'inosina e l'acido orotico sono presenti nel latte d'asina ma solo in tracce ($0,65 \pm 0,13$ mM), come nel latte umano (Schlimme et al., 1995; Liao et al., 2011). Alla guanosina è stata attribuita una funzione trofica in quanto la sua concentrazione extracellulare rimane alta per sette giorni dopo una lesione cerebrale (Sillero et al., 1993).

La concentrazione di citidina nel latte d'asina (Tabella 2) è molto simile a quella riscontrata nel latte umano e bovino (Schlimme et al., 1995; Gil et al., 1995). La citidina introdotta con la dieta viene convertita in uridina che è il composto che ha gli effetti metabolici sopra discussi.

Un altro importante nucleoside riscontrato nel latte d'asina è l'adenosina, la cui concentrazione ($1,29 \pm 0,081$ mM) risulta molto simile a quella del latte umano e bovino (circa $0,9 \pm$

0,2 mM). L'adenosina è una molecola neuromodulatrice presente in tutto lo spazio extracellulare del sistema nervoso centrale, ha un'azione neuro-protettiva durante l'ipossia e le lesioni cerebrali. Inoltre l'adenosina può controllare l'espressione e la progressione di una vasta gamma di condizioni neurologiche acute e croniche (Masino et al., 2009).

Per quanto riguarda il contenuto di nucleotidi (Tabella 3), nel latte di asina è stata trovata una notevole quantità di uridina monofosfato UMP ($22,97 \pm 1,13$ mM), mentre il contenuto di citidina monofosfato (CMP) è risultato essere di $8,57 \pm 3,76$ mM. L'UMP proveniente dalla dieta ha un effetto immunostimolante, come altri nucleotidi. A tale proposito, Mashiko e collaboratori (2009) hanno dimostrato che la somministrazione di UMP ai vitelli appena nati ha un'influenza positiva sulla risposta immunitaria in quanto l'UMP aumenta la proliferazione delle cellule mononucleate periferiche e porta ad un aumento della concentrazione di IFN-g e di IgA della mucosa ileale. Inoltre è stato dimostrato che la somministrazione serale di basse dosi di UMP produce un moderato aumento del numero di episodi di sonno REM e non REM (Kimura et al., 2001).

La guanidina monofosfato (GMP) è stata trovata in bassa quantità nel latte di asina mentre l'adenosina monofosfato (AMP) e l'inosina monofosfato (IMP) non sono stati trovati in questo tipo di latte (Tabella 3). Nel latte umano l'IMP è presente con una concentrazione di $25,25 \pm 6,87$ mM e costituisce circa il 15% dei nucleotidi (Liao et al., 2010). Tuttavia altri autori hanno trovato che questo nucleotide presenta valori di concentrazioni molto variabili nel latte umano: Janas e Picciano (1982) riportato un valore medio di 6,5 mM, mentre altri autori hanno riscontrato bassi livelli di IMP nel colostro e la sua totale assenza nel latte maturo (Leach et al., 1995).

Tab. 3 - Concentrazione dei nucleotidi nel latte di asina e confronto con il latte umano

Nucleotide	Latte di asina (mM)	Latte umano (mM)*
AMP	n.d.	2.96 ± 2.30
CMP	8.57 ± 3.76	49.10 ± 30.75
GMP	trace	0.82 ± 0.75
IMP	n.d.	25.25 ± 6.87
UMP	22.97 ± 1.13	5.60 ± 5.75

(Tratto da: Vincenzetti et al., 2014). *Liao et al., 2011.

CONCLUSIONI

L'importanza dei nucleotidi nella nutrizione degli infanti è stata descritta per la prima volta nel 1991 dal Comitato Scientifico per gli Alimenti della Commissione Europea, e successivamente nel 1996 venne considerata per la prima volta la possibilità di arricchire con i nucleotidi le formule di latte in polvere per la prima infanzia. La concentrazione di nucleosidi e nucleotidi nel latte di asina è molto simile a quella determinata nel latte umano; in particolare, nel latte di asina sono stati individuate elevate concentrazioni di citidina, uridina, CMP, UMP e guanosina, implicati in numerose attività fisiologiche e biochimiche, ed è stata inoltre individuata nel latte di asina una rilevante presenza di adenosina, importante composto coinvolto nel meccanismo dell'omeostasi del sonno, capace anche di proteggere e riparare il sistema nervoso centrale da eventuali danneggiamenti.

In prospettiva futura, sarebbe interessante poter studiare la variazione del contenuto di nucleosidi e nucleotidi nel latte di asina nell'arco delle 24 ore della giornata, ed anche nel corso delle diverse fasi della lattazione, considerato che la concentrazione di queste molecole

tende a diminuire gradualmente durante il procedere della lattazione, come è stato possibile evidenziare nel latte di tutte le altre specie mammifere dove tale tipo di indagine è già stata condotta, a differenza dell'asina, dove questo tipo di ricerca non è ancora mai stata svolta.

BIBLIOGRAFIA

- Biasini A., Stella M., Conti E., Bastelli A., Marvulli L., Rizzo V., Pagano G. (2011). Il potenziale biologico del latte umano: non solo nutrizione. *Quaderni ACP*, 18, 70-72.
- Carlezon W.A. Jr., Mague S.D., Parow A.M., Stoll A.L., Cohen B.M., Renshaw P.F. (2005). Antidepressant-like effects of uridine and omega-3 fatty acids are potentiated by combined treatment in rats. *Biol. Psychiatry*. 57, 343-350.
- Carlson S.E. (1985). Human milk non-protein nitrogen: occurrence and possible functions. *Adv. Pediatric*, 32, 43-63.
- Carver, J.D. (1999). Dietary nucleotides: Effects on the immune and gastrointestinal systems. *Acta Paediatr. Suppl*, 88, 83-88.
- Di Tommaso E., Foti M., Lia M.C., Manzo V., Vieni G., Liotta G. (2006). I latti sono tutti uguali? *Quaderni ACP*, 13, 36-39.
- EFSA NDA Panel (EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies), (2014). Scientific Opinion on the essential composition of infant and follow-on formulae. *EFSA Journal*. 12, 3760 (106 pp.)
- Emmet P.M., Rogers I.M. (1997). Properties of human milk and their relationship with maternal nutrition. *Early human development*, 49, 7-28.
- Evangelisti F., Restani P. (2011). *Prodotti Dietetici: Chimica, Tecnologia e Impiego*. Edizioni Piccin-Nuova Libreria, Padova.
- German J.B., Schanbacher F.L., Lonnerdal B. et al. (2005). International milk genomics consortium. *Trends Food Science & Technology* 2005, 17, 656-661.
- Gil A., Uauy R. (1995). Nucleotides and related compounds in human and bovine milks; in "Handbook of Milk Composition", (ed. R.G. Jensen), pp. 436-464, Academic Press, San Diego, CA.
- Gill B.D., Indyk H.E., Manley-Harris M. (2011) Determination of total potentially available nucleosides in bovine milk. *Int. Dairy J.* 21, 34-41.
- Janas L.M., Picciano M.F. (1982) The nucleotide profile of human milk. *Pediatr. Res.* 16, 659-662.
- Kimura T., Ho I.K., Yamamoto I. (2001) Uridine receptor: discovery and its involvement in sleep mechanism. *Sleep*. 24, 251-260.
- Koletzko B., Baker S., Cleghorn G., et al. (2005). Global standard for the composition of infant formula. Recommendations of an ESPGHAN coordinated International Group of experts. *Journal of Pediatric and Gastroenterology Nutrition*, 41, 584-599.
- Kondo D.G., Sung Y.H., Hellem T.L., Delmastro K.K., Jeong E.K., Kim N., Shi X., Renshaw P.F. (2011) Open-Label Uridine for Treatment of Depressed Adolescents with Bipolar Disorder. *J. Child Adolesc. Psychopharmacol.* 21, 171-175.
- Leach J.L., Baxter J.H., Molitor B.E., Ramstack M.B., Masor M.L. (1995) Total potentially available nucleosides of human milk by stage of lactation. *Am. J. Clin. Nutr.* 61, 1224-1230
- Liao K.Y., Wu T.C., Huang C.F., Lin C.C., Huang I.F., Wu L. (2011) Profile of nucleotides and nucleosides in Taiwanese human milk. *Pediatr. Neonatol.* 52, 93-97.
- Mashiko T., Nagafuchi S., Kanbe M., Obara Y., Hagawa Y., Takahashi T., Katoh K. (2009) Effects of dietary uridine 5'-monophosphate on immune responses in newborn calves. *J. Anim. Sci.* 87, 1042-1047.

- Masino S.A., Kawamura M., Wasser C.D., Pomeroy L.T., Ruskin D.N. (2009) Adenosine, Ketogenic Diet and Epilepsy: The Emerging Therapeutic Relationship Between Metabolism and Brain Activity. *Curr. Neuropharmacol.* 7, 257-68.
- Plakantara S., Michaelidou A.M., Polychroniadou A., Menexes G., Alichanidis E. (2010) Nucleotides and nucleosides in ovine and caprine milk during lactation. *J. Dairy Sci.* 93, 2330-2337.
- Polidori P., Ariani A., Vincenzetti S. (2015). Use of Donkey Milk in Cases of Cow's Milk Protein Allergies. *International Journal of Child Health and Nutrition.* 4, 174-179.
- Ramunno L., Chianese L., Di Gregorio P., Rando A., Marletta D., Mauriello L., Quarto M., Gallo D., Pauciullo A., Cosenza G., Nardone . (2011). Stato dell'Arte sulla Caratterizzazione Proteomica e Genomica delle Proteine del Latte di Asina. In "Latte di Asina: produzione, caratteristiche e gestione dell'azienda asinina", (Milonis E., Polidori P., eds.), pp. 183-191, Fondazione Iniziative Zooprofilattiche e Zootecniche, Brescia.
- Schlimme E., Schneehagen K. (1995) Ribonucleosides in human milk. Concentration profiles of these minor constituents as a function of nursing time. *Z. Naturforsch C.* 50, 105-113.
- Sillero A., Sillero M.A., Hernandez A. (1993) Effect of diets containing adenosine, guanosine, inosine or xanthosine on the nucleotide content of *Artemia*. Influence of mycophenolic acid. *Cell. Biochem. Funct.* 11, 193-200.
- Uauy R., Quan R., Gil A. (1994). Role of nucleotides in intestinal development and repair: implications for infant nutrition. *Journal of Nutrition*, 124, 1436-1441.
- Vincenzetti S., Pucciarelli S., Nucci C., Polzonetti V., Cammertoni N., Polidori P. (2014). Profile of nucleosides and nucleotides in donkey's milk. *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids*, 33, 656-667.
- Vincenzetti S., Pucciarelli S., Polzonetti V., Polidori P. (2017). Role of proteins and of some bioactive peptides on the nutritional quality of donkey milk and their impact on human health. *Beverages*, 3, 34.
- Working Group on the Nutritional Assessment of Infant Formulas. (1996) Dept. of Health. Guidelines on the nutritional assessment of infant formulas: report of the Working Group on the Nutritional Assessment of Infant Formulas of the Committee on Medical Aspects of Food and Nutrition Policy, The Stationery Office - Health & Fitness, pp. 1-41.
- Wurtman R.J., Cansev M., Sakamoto T., Ulus I. (2010) Nutritional modifiers of aging brain function: Increasing the formation of brain synapses by administering uridine and other phosphatide precursors, *Nutr. Rev.* 68, S88-S101.

ANTIOSSIDANTI NEL LATTE D'ASINA

DANIELA BEGHELLI

*Scuola di Bioscienze e Medicina Veterinaria, Università di Camerino,
Via Gentile III da Varano, 62032 Camerino (MC) Italia*

INTRODUZIONE

Gli asini rappresentano una delle specie che, nel corso dei secoli, ha subito una tra le più drastiche riduzioni numeriche. Alla fine del 1800, la loro presenza su tutto il territorio italiano era diffusa ed indispensabile; dal 1898 al 1900 fu addirittura pubblicato un giornale intitolato "L'Asino". Nel 1918 in Italia si contavano circa 950.000 capi asinini; 50 anni più tardi la loro consistenza stimata scese a 325.000 capi (Soldani, 1970) fino ad arrivare, nel 1981, a 124.000 capi (Baroncini, 1987) che precipitarono a 51.000 esemplari alla fine del 1990 (Soldani, 1993), per poi calare ancora drasticamente.

Negli ultimi 10 anni, tuttavia, si sta assistendo ad un andamento in controtendenza ed il loro numero si è incrementato fino a 5 volte. Oggigiorno, il 'patrimonio' asinino è stimato intorno alle 62.000 unità (Corriere Nazionale, 05/10/2018). L'asino ha attraversato, pertanto, un lungo periodo in cui sembrava destinato a non trovare più posto nel "mondo occidentale" ed alcune razze, nel frattempo, sono scomparse. Oggigiorno, tuttavia, grazie all'attività di conservazione delle razze animali in via d'estinzione negli allevamenti italiani, nonché agli sforzi di salvaguardia della biodiversità genetica ad opera delle Associazioni di Allevatori presenti sul territorio nazionale, è stato possibile garantire la sopravvivenza di numerose razze non solo di asini, ma anche di mucche, pecore, capre, cavalli e maiali a rischio di scomparsa (Marini, 2007).

In sostanza, ad oggi, il recupero dell'allevamento asinino si presenta, da un lato, come un intervento di tutela della biodiversità in quanto consente la conservazione di diverse razze a rischio di estinzione; dall'altro, può rappresentare un'occasione di rinnovato sviluppo per molte aree marginali (Marini, 2007).

L'allevamento di asini inteso come allevamento di animali produttori di latte rappresenta, poi, un inedito assoluto degli ultimi anni; ma se questa tipologia di allevamento ha trovato spazio nel mondo occidentale ciò è dovuto alle peculiari caratteristiche del latte stesso. Il latte d'asina è, in realtà, un prodotto antico, da sempre utilizzato. Le sue caratteristiche benefiche per la pelle (e, quindi, il suo impiego nella cosmesi) erano note fin dai tempi di Cleopatra. La proprietà lenitiva sulla pelle e cuoio capelluto di questo latte, conosciuta appunto fin dal tempo degli antichi egizi, è probabilmente dovuta proprio all'alto contenuto di lisozima (Chiofalo et al., 2006).

Il latte d'asina possiede comunque anche importanti caratteristiche antiossidanti, detergenti ed idratanti. Il complesso multivitaminico in esso presente (Vitamine A, B, C ed E) blocca ed allontana i cataboliti del metabolismo cellulare della cute, avviando un'azione epitelio protettiva e, proprio per esaltare queste proprietà detergenti ed idratanti, oggi l'industria cosmetica ha realizzato delle formulazioni di saponi e creme a base di latte d'asina.

Molto meno si sapeva in antichità, però, circa le caratteristiche nutrizionali del latte d'asina. Bisognerà, infatti, attendere il Rinascimento per una prima vera considerazione scientifica del latte di asina da parte dei saggi del tempo (Paolicelli, 2005) e fu in Francia che nel

XIX secolo, ad opera del dottor Parrot, si diffuse la pratica di avvicinare i neonati orfani di madre direttamente al capezzolo dell'asina nell'Hôpital des Enfants Assistés.

Nell'ex Unione Sovietica e Mongolia, inoltre, il latte d'equide viene da tempo tradizionalmente utilizzato per la produzione di Koumiss (latte alcolico fermentato) che si ritiene abbia qualità terapeutiche (Tejpal Dhewa et al., 2015). Alcuni ricercatori hanno, effettivamente, poi dimostrato che i peptoni derivanti dall'idrolisi della b-caseina equina esercitano effetti positivi sulla salute dell'uomo (Doreau et Rosseau, 2002); mentre Ya et al. (2008) hanno riscontrato effetti immunostimolanti del koumiss in animali sperimentali.

Attualmente la comunità scientifica eredita, da tale tradizione storica, il senso dell'importanza del latte di asina che, ad oggi, sembra essere scientificamente riconosciuto quale miglior sostitutivo del latte materno nell'alimentazione della prima infanzia (Iacono et al., 2002; Agostino e Palmesi, 2007; Vincenzetti et al., 2007). Normalmente, però, quando il latte materno non è disponibile ed il latte vaccino è responsabile di allergia alimentare (Cow Milk Protein Allergy: CMPA), questo alimento viene in prima istanza sostituito da latte di soia e/o latte proveniente da animali diversi dalle mucche (capre, asine, cavalle) arricchito o meno di idrolizzati proteici; questi ultimi, sfortunatamente, sono caratterizzati da una scarsa appetibilità (sapore di cotto) a causa delle alte temperature cui vengono sottoposti durante i trattamenti tecnologici (A.A.P., 1998).

Alcuni bambini affetti da CMPA hanno comunque manifestato reazioni allergiche anche alle proteine di latte di capra (circa il 25-30%) ed alle proteine di carne di diversi erbivori (Greco, 2001). Tali alimenti, inoltre, oltre a poter dare luogo a reazioni crociate nei pazienti allergici, si caratterizzano per un costo elevato e per presentare delle carenze nutrizionali rispetto al latte materno (A.A.P., 1998). Il problema del trattamento terapeutico di questi pazienti fa sì che una branca della medicina pediatrica si continui a concentrare proprio sulla ricerca di una valida alternativa al latte vaccino, di soia e latte arricchito di idrolizzati proteici ed il latte d'asina sembrerebbe fornire una soluzione (Muraro et al., 2002; Restani et al., 2002).

Proprio in quanto il latte d'asina viene destinato a categorie di consumatori a rischio quali i neonati senza latte materno, a soggetti allergici ad altri latte (Carroccio et al., 2000; Curadi et al., 2001; Iacono e D'Amico, 2001; Vincenzetti *et al.*, 2008) ed a persone anziane (Conte, 2007), le conoscenze sulle caratteristiche dietetico nutrizionali ed igienico sanitarie di questo prodotto continuano ad essere via via oggetto di valutazione e studio (Doreau e Martuzzi, 2006; Salimei e Chiofalo, 2006) e questo fa sì che si vengano a scoprire sempre maggiori dettagli sulle sue proprietà (Vincenzetti et al., 2017).

Tra le caratteristiche nutrizionali più importanti del latte d'asina si evidenziano: l'elevata concentrazione di lattosio, che lo rende simile, nel sapore, al latte materno (Oftedal & Jennes, 1998; Chiofalo et al., 2004); un profilo proteico idoneo alle condizioni/sviluppo dell'apparato digerente di un lattante; un quantitativo in ceneri sovrapponibile a quello riportato, in letteratura, sul latte umano (Criscione et al., 2009; Cunsolo et al., 2007; Salimei et al., 2006). Non bisogna, tuttavia, dimenticare che, tra le sue componenti vi sono anche alcoli, terpeni e costituenti carbonilici, componenti aromatiche che contribuiscono ad aumentarne l'appetibilità.

Ricordiamo, inoltre, che i lipidi presenti nel latte d'asina, seppure poco rappresentati rispetto ad altri latte, si caratterizzano per alcuni effetti funzionali, diretti ed indiretti, sulla microflora intestinale e sulla funzionalità del sistema immunitario: da ciò ne deriva una loro funzione sulla capacità di intervenire nella prevenzione di alcune patologie (Chiofalo, 2001; Chiofalo et al., 2003). Il latte d'asina, rispetto al latte dei ruminanti, è infatti eccezionalmente ricco di acidi grassi polinsaturi n-3 (PUFA) e, soprattutto, presenta un basso rapporto di PUFA n.6/n.3 (Bučević-Popović et al., 2014).

Un altro aspetto del latte inteso come alimento che viene attualmente poco considerato è, infine, la sua capacità di apportare sostanze antiossidanti. Il latte umano, infatti, oltre a ga-

rantire il corretto apporto di nutrienti, si caratterizza per fornire una serie di fattori di difesa necessari per una crescita sana del neonato (Goldman e Goldblum, 1995) e, tra questi ultimi, così come dimostrato da studi sperimentali condotti in animali (Friel *et al.*, 2002), le sostanze antiossidanti rivestono un ruolo importante nel contrastare i danni tessutali indotti da stress ossidativo (Lucas & Cole, 1990; Tsopmo *et al.*, 2009).

Le componenti antiossidanti presenti nel latte hanno, inoltre, non solo il compito di contrastare la lipoperossidazione dei lipidi presenti nel latte (evitando così che il latte acquisti un sapore rancido); ma anche quello di ridurre la perdita di altre importanti componenti nutrizionali o bioattive che risentirebbero di una instabilità ossidativa e che sono necessarie a promuovere invece la salute degli infanti e della popolazione anziana, in particolare (Buescher e McIlheran, 1988; Van Zoeren-Grobbe *et al.*, 1993; Friel *et al.*, 2002.)

PUFA (ac. grassi polinsaturi), acido linoleico coniugato, fosfolipidi, carotenoidi, coenzima Q10, flavonoidi e vitamine (A, E, D₃ e C), peptidi, triptofano (Tsopmo *et al.*, 2009; Simos *et al.*, 2011; Grażyna *et al.*, 2017) sono tutte componenti antiossidanti sia lipofile che idrofile presenti nel latte che rivestono un ruolo benefico sullo stato di salute dei consumatori in generale, permettendo a questi ultimi di meglio contrastare lo stress ossidativo che è alla base di molte patologie acute e croniche (Dalle-Donne *et al.*, 2006; Valko *et al.*, 2007; Simos *et al.*, 2011).

Per garantire una crescita sana ed adeguata dell'infante è, pertanto, importante che qualora il latte materno non fosse disponibile, l'alimento sostituito sia formulato non solo per garantire l'apporto nutrizionale adeguato, ma anche una quantità adeguata di sostanze antiossidanti (Beghelli *et al.*, 2016). Alcuni autori hanno invece evidenziato che nei processi di adattamento del latte vaccino ed altri surrogati a quelli che sono i requisiti nutrizionali per la prima infanzia, molte sostanze vengono perse tra cui quelle a valenza antiossidante che possono arrivare addirittura ad essere completamente assenti (Goldman *et al.*, 1990 e 1995; Fenaille *et al.*, 2006).

Il latte d'asina, anche sotto questo aspetto, riscuote ed a ragione, interesse da parte della Comunità Scientifica in quanto il suo impiego può essere 'diretto', senza bisogno di modificarne la composizione nutrizionale, essendo già di per sé il sostituto più vicino al latte materno. Ma cosa sappiamo oggi sulle sue caratteristiche antiossidanti? I lavori disponibili in bibliografia che abbiano indagato questa proprietà del latte d'asina sono tutti relativamente recenti e sono iniziati a comparire una volta che nell'ambiente scientifico alla teoria del 1956 'dell'invecchiamento legata alla presenza di radicali liberi' (Harman, 1956) è stata associata quella dell' 'inflammaging' (Franceschi *et al.*, 2000) che consolida una stretta correlazione tra infiammazione cronica e stress ossidativo nonché un loro ruolo fondamentale nella comparsa di malattie, cancro ed invecchiamento.

La consapevolezza poi che attraverso la modifica di alcuni fattori ambientali, tra cui la dieta, si potesse interferire sulle aspettative di vita ha 'scatenato' la ricerca scientifica nell'individuazione di quelle componenti, negli alimenti, le cui proprietà biologiche potessero esercitare un effetto benefico sulla salute e, possibilmente, nel ritardare il fisiologico processo dell'invecchiamento e malattie correlate. Da qui il proliferare di una serie di lavori scientifici che scoprono o riscoprono nei prodotti di origine vegetale e animale alimenti funzionali e fonti di nutraceutici con proprietà antiossidanti e/o anti-infiammatorie, immunomodulanti ed antimicrobiche.

Uno studio condotto da Amati e collaboratori del 2010 ha messo in evidenza come il latte di asina fosse in grado di esercitare azione immunostimolante nei soggetti anziani che si erano resi disponibili ad assumerlo per un mese, andando ad stimolare in maniera significativa la produzione di IL-8 ed IL-6 e, parzialmente, anche di IL-1b e TNFa. Lo studio condotto *in vitro* da Simos e collaboratori (2011) per confrontare le caratteristiche antiossidanti del latte di capra (razze: Prisca, Ionica e Saanen), di bovino e d'asina (Martina Franca) ha, invece, in-

dividuato nel latte di capra Prisca il latte a maggior capacità antiossidante totale (TAC), seguito dal latte bovino e, infine, da quello di asina che aveva però valori sovrapponibili a quello delle altre due razze di capra investigate. Gli autori hanno attribuito le maggiori proprietà antiossidanti del latte di capra di razza Prisca non solo alla diversità genetica, ma soprattutto al diverso regime alimentare cui erano sottoposti gli animali: più l'alimentazione era costituita dal pascolo, più aumentavano le proprietà antiossidanti del latte. Tutte le specie lattifere risentono, però, del regime alimentare e nel lavoro di Valentini et al. (2018) ciò è stato osservato anche nella specie asinina. In questo studio si è valutato l'effetto dell'integrazione della dieta di asine in lattazione (a partire dal secondo mese di lattazione e per 15 giorni continuativi) con cladodi ('pale') di fico d'India (*Opuntia ficus-indica* (L.) Miller). Questa pianta possiede note proprietà antiossidanti e la sua integrazione nella dieta ha indotto un significativo incremento dell'attività antiossidante del latte (valutata tramite test DPPH e ABTS) già dopo una settimana; i valori aumentati di capacità antiossidante del latte si sono poi mantenuti costanti durante il restante periodo di osservazione (15 giorni).

Secondo un recente studio di Longodor et al. (2019) condotto nella specie asinina, un altro importante fattore che può influire sulle proprietà antiossidanti del latte è rappresentato dallo stadio di lattazione che influenza non solo le caratteristiche fisico chimiche e composizione amino acidica del latte (Salimei et al., 2012), ma anche le sue proprietà antiossidanti. Secondo questi autori, infatti, si può assistere ad un incremento delle proprietà antiossidanti del latte d'asina con il progredire della lattazione; sebbene, poi, non sia stato specificato se la differenza osservata fosse significativa. Ciò non è stato riportato da altri autori (Beghelli et al., 2016) che hanno, invece, osservato una sostanziale costanza delle valenze antiossidanti durante l'intero ciclo produttivo a parità di regime alimentare. Nello stesso studio, inoltre, l'applicazione di un unico test rapido di screening *in vitro* delle valenze antiossidanti totali (TAC) è stato proposto per un'analisi comparativa delle valenze antiossidanti nel latte di più specie mammifere (tra cui era compreso anche l'uomo). Il latte umano è risultato quello con valori di TAC inferiori a quelli riscontrati nel latte di asina e bovina, a loro volta inferiori a quelli trovati nel latte di capra e pecora (Beghelli et al., 2016).

Nel lavoro condotto da Bučević-Popović et al. (2014) sono state nuovamente messe a confronto, separatamente, le proprietà antiossidanti della frazione lipidica e del siero di latte di diverse specie lattifere (asinina, bovina, caprina ed ovina). In questo studio è emerso che, a differenza di quanto riportato da Simos e collaboratori, è proprio il grasso del latte d'asina, insieme a quello del latte bovino, ad avere la più elevata stabilità ossidativa (misurata tramite metodo Rancimat: che valuta la formazione di ac. Formico volatile). Il siero di latte dell'asina ha, inoltre, mostrato di possedere una capacità di 'scavenging' (rimozione) dei radicali ossidrilici (DPPH) e potere antiossidante basato sulla riduzione dello ione ferrico (FRAPP test) drasticamente più elevato di tutte le altre specie. Dallo studio di questi ricercatori è anche emerso che, a seguito della digestione (da loro testata *in vitro*), il latte è in grado di liberare composti con proprietà antiossidanti ancora maggiori e questo era già stato riscontrato da altri autori nel latte umano (Hernandez-Ledesma et al., 2007; Power et al., 2013).

I dati disponibili in bibliografia sulle caratteristiche antiossidanti del latte (in particolare del latte d'asina che raramente – nei lavori comparativi – viene scelto per essere paragonato con quello di altre specie) sono, tuttavia, difficilmente comparabili sia perché le condizioni sperimentali adottate sono quasi sempre diverse che perché diversi sono i test che vengono applicati in queste valutazioni. È importante ricordare che le diverse componenti antiossidanti di un alimento agiscono attraverso molteplici meccanismi; non esiste, pertanto, in laboratorio la possibilità di misurare le proprietà antiossidanti di una matrice con un test univoco. Normalmente si ovvia a questa difficoltà utilizzando almeno due o tre tipi di test di laboratorio che esplorano i diversi meccanismi di azione attraverso cui le possibili valenze ossidanti vengono neutralizzate (Shahidi e Zhong 2005), questo però rende poi difficilmente compara-

bili i risultati delle ricerche. Il senso, inoltre, di un'analisi delle proprietà biologiche delle diverse componenti di un alimento *in vitro*, dovrebbe sempre essere comprovato da quello che avviene a seguito della digestione.

Un aspetto importante della ricerca di Bučević-Popović e collaboratori nel confrontare il latte di diversa origine animale è stato proprio quello di valutare il potere antiossidanti dei presenti composti bioattivi, una volta che erano stati 'digeriti' *in vitro*. Ricerca analoga, sebbene esclusivamente limitata al latte della specie bovina, è stata condotta da Tagliazucchi e collaboratori (2016). Gli alimenti, infatti, una volta introdotti nel sistema digestivo, in funzione della loro composizione, sono già di per sé in grado di esercitare effetti diretti sul microbiota, ma ancora più importante è l'azione che viene esercitata dai loro metaboliti primari e secondari non solo sul microbiota, ma anche all'interno dell'organismo, una volta assorbiti. La funzione biologica dei peptidi antiossidanti dipende, infatti, largamente dalla loro biodisponibilità (Power et al., 2013). La biodisponibilità delle componenti bioattive di un alimento, tuttavia, segue un processo più complesso di quello che interessa i composti farmacologici e, quindi, in questo caso, il tradizionale modello della farmacocinetica (liberazione, assorbimento, distribuzione e metabolismo: LADME) viene sostituito da un nuovo concetto di nutricinetica (Berger et al., 2011).

Power e collaboratori, nel 2013, misero in evidenza come alcuni peptidi del latte, solo una volta idrolizzati dalla digestione enzimatica, fossero in grado di esercitare azione di chelazione dei metalli, rimozione dei radicali liberi ed inibissero la lipo-perossidazione. La potenzialità antiossidante dei peptidi derivanti dall'idrolisi delle proteine del latte è, inoltre, determinata da diversi fattori che possono agire in sinergia o in maniera antagonista e da ciò ne deriva che talvolta la loro potenzialità antiossidante *in vivo* è maggiore di quanto non si potesse prevedere dalle sole analisi *in vitro*.

Nello studio condotto da Tsopmo e collaboratori (2009) è stato osservato che il latte materno, una volta digerito, era in grado di aumentare notevolmente le proprie proprietà antiossidanti. Gli infanti, sia che nascano pretermine o a fine gestazione, non hanno, nei primi giorni/mesi di vita, un sistema difensivo antiossidante enzimatico maturo ed efficiente. È, pertanto, fondamentale che il loro primo alimento (e così eventuali sostituiti, nel caso mancasse il primo) sia in grado di fornire loro le componenti antiossidanti bioattive necessarie a contrastare lo stress ossidativo che accompagna i loro primi giorni di vita, visto che passano da un ambiente ipossiemico quale è quello del grembo materno a quello 'iper-ossigenato' della vita extra-uterina.

Per questo motivo, in attesa che il sistema enzimatico si maturi negli infanti, sarà il latte materno a fornire enzimi ad azione antiossidante quali superossido dismutasi, glutatione perossidasi, catalasi, nonché vitamine ad azione antiossidante (C ed E) e lattoferrina (che lega il ferro prevenendo la reazione di Fenton). Insieme a queste più note componenti antiossidanti del latte materno, però, questi stessi autori hanno anche identificato altre importanti componenti bioattive che incrementano notevolmente la loro capacità antiossidante una volta subito il processo digestivo. Tra queste l'aminoacido triptofano è il più importante: la sua concentrazione nel latte materno è pari al 2,2-2,4% ed è ben superiore rispetto a quanto riscontrato, per esempio, nelle proteine del latte bovino (1,3%). Il triptofano è un aminoacido limitante nella dieta dell'uomo e per aumentarne la sua concentrazione nei sostituti del latte si può ricorrere all'implementazione con a-lattoalbumina.

Ora, non esistono attualmente lavori che abbiano valutato la presenza di triptofano nelle proteine del siero di latte d'asina, una volta idrolizzato *in vitro*, così da poter affermare che, anche sotto questo punto di vista, il latte d'asina è il miglior sostituto del latte materno. Quello che ad oggi si conosce, però, è che il latte d'asina si caratterizza per avere una concentrazione di a-lattoalbumina di 1,8 g/L che è molto vicina a quella del latte umano (Vincenzetti et al., 2017).

Lo studio condotto da Tagliazucchi e collaboratori nel latte bovino (2016) ha, inoltre, specificato che gli aminoacidi triptofano e tirosina erano fondamentali nell'indurre l'attività antiossidante valutata con la capacità di rimuovere i radicali idrossilici; mentre gli aminoacidi istidina e fenilalanina lo erano nell'inibire la lipoperossidazione lipidica.

Da uno studio di Trinchese e collaboratori (2015) in cui è stato valutato, *in vivo* (ratti Wistar), l'effetto della somministrazione di latte umano, d'asina e bovino sul microbiota e funzionalità mitocondriale è emerso, infine, che solo il latte d'asina si comportava come il latte umano nel ridurre la risposta infiammatoria e nel migliorare il metabolismo lipidico e glucidico. Gli effetti benefici di questi due latte (umano e d'asina) erano mediati, almeno in parte, dalla loro capacità di modulare l'efficienza e funzionalità mitocondriale, l'omeostasi dei radicali ossidrilici e la via metabolica di Nrf2-FGF21. Questi due latte si sono, inoltre, dimostrati in grado di influenzare in particolare alcuni ceppi batterici del microbiota e metaboliti, legando, quindi, lo stato del microbiota intestinale al metabolismo dell'ospite e lasciando, così, intravedere la possibilità-attribuita alla scelta del giusto alimento - di agire nei confronti di possibili disordini metabolici.

In conclusione si può affermare che il cercare di incrementare i meccanismi di difesa dell'uomo tramite l'apporto dietetico di adeguate quantità di sostanze antiossidanti naturali può migliorare le difese immunitarie e ridurre la predisposizione alle malattie. Se l'organismo, infatti, non dispone di adeguati meccanismi antiossidanti, può facilmente andare incontro a stress ossidativo, con conseguente comparsa di infiammazione, danni cellulari, tissutali e malattie (Dalle-Donne et al., 2006). Molte organizzazioni internazionali raccomandano il consumo quotidiano di prodotti lattiero-caseari per perseguire una salute ottimale (Bishop-MacDonald, 2005). È importante riuscire ad identificare quante più possibili componenti antiossidanti bioattive del latte d'asina e, soprattutto, comprendere meglio il rapporto tra le loro attività *in vitro* e dopo idrolisi enzimatica (digestione *in vivo*) affinché si possa riuscire a comprendere i benefici che il loro consumo a lungo termine determinano nella salute umana.

BIBLIOGRAFIA

- Agostino R., Palmes F., 2007. "Allattamento materno e latte d'asina" Atti del II Convegno nazionale sul latte di asina: "Latte d'asina: perché?" Roma, 22 Marzo 2007.
- Baroncini R. 2001. "L'asino, il mulo e il bardotto" Ed. Agricole., Bologna. Calderini Edagricole, Bologna, pp. XVI-266.
- Beghelli D., Lupidi G., Damiano S., Cavallucci C., Bistoni O., De Cosmo A., Polidori P. 2016. Rapid Assay to Evaluate the Total Antioxidant Capacity in Donkey Milk and in more Common Animal Milk for Human Consumption. *Austin Food Sci.* 1,1 id1003.
- Berger R.G., Lunkenbein S., Ströhle A., Hahn A. 2011. Antioxidants in food: mere myth or magic medicine? *Crit. Rev. Food Sci.* 52, 2, 162-171.
- Bučević-Popović V., Delaš I., Medugorac S., Pavela-Vrančić M., Kulišić-Bilušić T. 2014. Oxidative stability and antioxidant activity of bovine, caprine, ovine and asinine milk. *Intern. J. Dairy Technol.* 67, 3, 394-401.
- Bishop-MacDonald, H. 2005. Dairy food consumption and health: state of the science on current topics. *J. Amer. Coll. Nutrit.* 24, 525S.
- Buescher, E. S., McIlheran, S. M. 1988. Antioxidant properties of human colostrum. *Ped. Res.*, 24, 14-19.
- Chiofalo B., Drogoul C., Salimei E. 2006. "Other utilisation of mare's and ass's milk. Nutrition and feeding of the broodmare" EAAP publication No. 120, Campobasso, Italy 20-22 June.
- Conte F. 2007. "Linee guida per il controllo igienico-sanitario del latte d'asina" Atti del II° Convegno nazionale sul latte d'asina: Latte d'asina: Perché?. Roma, 22 Marzo 2007.

- Criscione A., Cunsolo V., Bordonaro S., Guastella A.M., Saletti R., Zuccaro A., D'Urso G., Marletta D. 2009 Donkey milk protein fraction investigated by electrophoretic methods and mass spectrometry analysis. *Internat. Dairy J.* 19, 190-197.
- Cunsolo V., Saletti R., Muccilli V., Foti S. 2007 Characterization of the protein profile of donkey's milk whey fraction. *J. Mass Spectr.* 42, 1162-1174.
- Dalle-Donne I., Rossi R., Colombo R., Giustarini D., Milzani A. 2006. Biomarkers of oxidative damage in human disease. *Clin Chem.* 52, 601-623.
- Dhewa.T., Mishra V., Kumar N., Sangu K.P.S. 2015. Koumiss: The Nutritional and Therapeutic Values. In book: *Fermented Milk and Dairy Products*. Capitolo 18. Publisher: Boca Raton, FL: CRC Press. Editors: A.K Puniya.
- Doreau, M., Martin-Rosset, W. 2002. Dairy animals: Horse. In: *Encyclopaedia of Dairy Sciences*, eds. H. Roginski, J.A. Fuquay, and P.F. Fox, 630–637. London: Academic Press.
- Doreau M., Martuzzi F. 2006. "Fat content and composition of mare milk" In: *Proceedings of III European Workshop on Equine Nutrition*, a cura di N. Miraglia, W. Martin-Rosset. Wageningen, The Netherlands: Wageningen Academic Publisher, 2006. EAAP publication n. 120.
- Fenaille F., Parisod V., Visani P., Populaire S., Tabet J.-C., Guy P.A. 2006. Modifications of milk constituents during processing: A preliminary benchmarking study. *Int. Dairy J.*, 16, 728-739.
- Franceschi C., Bonafè M., Valensin S., Olivieri F., De Luca M., Ottaviani E., De Benedictis G. 2000. Inflamm-aging. An evolutionary perspective on immunosenescence. *Ann N Y Acad Sci.* 908, 244-254.
- Friel J.K., Martin S.M., Langdon M., Herzberg G.R., Buettner G.R. 2002. Milk from Mothers of Both Premature and Full-Term Infants Provides Better Antioxidant Protection than Does Infant Formula. *Ped. Res.* 51, 5, 612-618.
- Goldman A.S., Goldblum R.M., Hanson K.A. 1990. Anti-inflammatory systems in human milk. *Adv in Exp Med and Biol.* 262: 69-76.
- Goldman A.S., Goldblum R.M. 1995 Defence agents in human milk. In: *Handbook of Milk Composition* (Jensen R Eds) pp. 727-745, Academic Press, San Diego California USA.
- Greco L. 2001. "Gestione pratica del bambino con diagnosi certa di I. P. L. V" In: *Proceedings of l'asino: Attualità e prospettive dell'impiego in campo medico, zootecnico ed alimentare*" Palermo 25 maggio. 29-42.
- Harman D. 1956. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol*;11:298-300.
- Hernandez-Ledesma B., Quiros A., Amigo L., Recio I. 2007. Identification of bioactive peptides after digestion of human milk and infant formula with pepsin and pancreatin. *Intern. Dairy J.* 17, 42-49.
- Iacono G., Carroccio A., Cavataio F., Montaldo G., Soresi M., Balsamo V. 1992. Use of ass's milk in multiple food allergy. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition.* 14, 177e181.
- Longodor A.L., Mireşan V., Codea R. A., Răducu C., Andronie L., Marchiş Z., Balta I., Mariş C., Coroina A. 2019. Antioxidant capacity in donkey milk (*Equus asinus*) depending on lactation. *Scien, Bull. Series F. Biotechnol.*, Vol. XXIII.
- Lucas A., Cole T.J. 1990 Breast milk and necrotizing enterocolitis. *The Lancet* **336** Issues 8730–8731 1519-1523.
- Marini S. 2007. "Valorizzare il latte d'asina come risorsa economica, sociale ed ambientale" Da: *Il Convegno Nazionale sul latte d'asina*. 22 Marzo 2007 Roma.
- Paolicelli F., 2005. "Impiego del latte di asina e delle sue componenti in campo medico, alimentare e cosmetico" *Atti del Primo Convegno Nazionale sull'asino*. Ce. Mi. Vet. Grosseto. 28-29 maggio 2005.

- Power O., Jakeman P., FitzGerald J. 2013. Antioxidative peptides: enzymatic production, in vitro and in vivo antioxidant activity and potential applications of milk-derived antioxidative peptides. *Amin. Ac.* 44., 797-820.
- Salimei E, Fantuz F. 2012. Equid milk for human consumption. *Intern Dairy J.* 24, 130-142.
- Shahidi F., Zhong Y. 2005. Lipid oxidation: measurement methods. *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*, 6th edn, pp. 357-385. F. Shahidi ed. New Jersey: Wiley and Sons.
- Simos Y., Metsios A., Verginadis I., D'Alessandro A.G., Loiudice P., Jirillo E., Charalampidis P., Kouimanis V., Boulaka A., Martemucci G., Karkabounas S. 2011. Antioxidant and anti-platelet properties of milk from goat, donkey and cow: An in vitro, ex vivo and in vivo study. *Inter Dairy J.* 21, 901-906.
- Soldani A. 1970. "Parte III. Italia-Allevamento" In, *Calendario Atlante DeAgostini*, Istituto Geografico DeAgostini, Novara. p. 80.
- Soldani A. 1993. "Parte III. Italia-Allevamento" In, *Calendario Atlante DeAgostini*, Istituto Geografico DeAgostini. DeAgostini, Novara. Pag. 89.
- Tagliazucchi D., Helal A., Verzelloni E., Conte A. 2016. Bovine milk antioxidant properties: effect of in vitro digestion and identification of antioxidant compounds. *Dairy Sci. & Technol.* 96, 657-676.
- Trinchese G., Cavaliere G., Berni Canani R., Matamoros S., Paolo Bergamo P., De Filippo C., Aceto S., Gaita M., Cerino P., Negri R., Greco L., Cani P. D., Mollica M. P. 2015. Human, donkey and cow milk differently affects energy efficiency and inflammatory state by modulating mitochondrial function and gut microbiota. *J. Nutr. Biochem.*, 26, 1136-1146.
- Tsopmo A., Diehel-Jones B.W., Aluko R.E., Kitts D.D., Elisia I., Friel J.K. 2009. Tryptophan Released From Mother's Milk Has Antioxidant Properties. *Ped. Res.* 66, 6, 614-618.
- Valentini V., Allegra A., Adduci F., Labella C., Paolino R., Cosentino C. 2018. Effect of cactus pear (*Opuntia ficus-indica* (L.) Miller) on the antioxidant capacity of donkey milk. *Internat. J. Dairy Technol.* 71, 3, 579-584.
- Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T., Mazur M., Telser J. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Inter J of Biochem and Cell Biol.* 39, 44-84.
- Van Zoeren-Grobden D.V., Moison R.M.W., Berger H.M. 1993. Lipid peroxidation in human milk and infant formula: effect of storage, tube feeding and exposure to phototherapy. *Acta Paed.* 82, 645-649.
- Vincenzetti S., Polidori P., Vita A. 2007. Nutritional characteristics of donkey's milk protein fraction. In *Dietary protein research trends* (Ling JR Eds) pp. 207-225 New York, USA: Nova Science Publisher Inc
- Vincenzetti S., Polidori P., Mariani P., Cammertoni N., Fantuz F., Vita A. 2008. Donkey's milk protein fractions characterization. *Food Chem.* 106, 640-649.
- Vincenzetti S., Pucciarelli S., Polzonetti V., Polidori P. 2017. Role of Proteins and of Some Bioactive Peptides on the Nutritional Quality of Donkey Milk and Their Impact on Human Health. *Beverages.* 3, 34.
- Ya, T., Zhang, Q., Chu, F., Merritt, J., Bilige, M., Sun, T., Du, R., and Zhang, H. 2008. Immunological evaluation of *Lactobacillus casei* Zhang: A newly isolated strain from koumiss in inner Mongolia, China. *BMC Immunol.* 9, 68.

PRODOTTI LATTIERO-CASEARI E PROBIOTICI A BASE DI LATTE D'ASINA

FABIO COLORETTI

*Dipartimento di Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari (DISTAL)
Alma Mater Studiorum - Università di Bologna*

INTRODUZIONE

Negli ultimi anni l'interesse verso il consumo di latte di asina è aumentato in maniera considerevole per l'attenzione posta su di esso da parte dei medici pediatri che, grazie al suo limitato contenuto in caseina, ne consigliano l'uso come alternativa al latte umano per i lattanti che mostrano allergia alle proteine del latte vaccino. Il latte di asina possiede inoltre caratteristiche uniche, quali attività antibatteriche, antivirali, antiinfiammatorie ed antitumorali (Tidona et al., 2011).

In questa sede verranno illustrati le tecnologie ed i principali prodotti lattiero-caseari proposti a partire da latte di asina, dopo averne analizzato le peculiarità compositive.

COMPOSIZIONE DEL LATTE DI ASINA E ATTITUDINE TECNOLOGICA

Il latte di asina, al pari di quello di altri equidi domestici, ha una composizione chimico-fisica vicina a quello umano, ma con notevoli differenze rispetto alle principali specie lattifere (Tabella 1).

Il contenuto in grasso risulta infatti notevolmente inferiore, con una notevole variabilità individuale e in funzione del periodo di lattazione. Nel latte la maggior parte delle sostanze grasse è rappresentata dai trigliceridi: nel latte bovino questi ne rappresentano il 97-98%, nel latte di asina questa percentuale si riduce all'80-85%, con una frazione di acidi grassi liberi del 5-10%. Il latte di asina risulta maggiormente ricco in acidi grassi insaturi, con percentuali in monoinsaturi (MUFA) intorno al 20% e di polinsaturi (PUFA) tra l'11 ed il 20%. Gli acidi grassi saturi rappresentano più della metà degli acidi grassi del latte bovino e dei ruminanti in genere, mentre risultano meno del 50% in quello di asina (Alichanidis et al., 2016). I CLA (Coniugati dell'Acido Linoleico) sono presenti in quantitativi trascurabili rispetto al latte dei ruminanti, dove vengono sintetizzati a livello ruminale. Il basso contenuto in grasso può costituire un punto di forza, con l'ottenimento di prodotti lattiero-caseari classificabili come magri, ma che potrebbero mostrare limiti a livello strutturale e a livello olfatto-gustativo (D'Alessandro et al., 2019).

La concentrazione del lattosio è di circa il 6,6%, valore superiore a quello delle altre specie lattifere ed in linea con quello del latte umano. La quantità di lattosio presente nel latte di asina non rappresenta dunque un limite all'attività fermentativa dei batteri lattici, necessari per la produzione di bevande fermentate o nella caseificazione.

Il contenuto in proteine del latte di asina è anch'esso limitato, con percentuali variabili tra 1,4% e 2,2%, di gran lunga inferiori alle specie lattifere ruminanti. Tra le proteine, le caseine rivestono un ruolo fondamentale nella caseificazione, costituendo il substrato su cui agiscono gli enzimi del caglio, dando il via alla formazione del coagulo. Nel latte di asina, già di per

sé povero in proteine, le caseine ne costituiscono solamente il 47,3%; questo dato è inferiore sia a quello relativo al latte di cavalla (55%) che, soprattutto, a quello del latte bovino (80%). Le caseine più rappresentate sono α_{S1} - e la β - caseina; il limitato contenuto in k-caseina, su cui agisce la chimosina del caglio, ne limita l'attitudine alla coagulazione, anche in considerazione delle ridotte dimensioni delle micelle dove la k-caseina costituisce lo strato esterno idrofilo che ne assicura la stabilità colloidale (Uniacke-Lowe et al., 2010).

Tab. 1 - Composizione centesimale del latte di asina a confronto con il latte vaccino ed umano. Valori medi e range

	Asina	Giumenta	Donna	Bovina	Capra	Pecora
Sostanza secca (g/100g)	9,5 (8,5-11,7)	10,4 (9,3-11,6)	12,5 (11,0-12,9)	12,7 (10,5-13,7)	13,2 (11,9-6,3)	17,8 (15,2-19,3)
Grassi (g/100g)	1,4 (0,1-1,8)	1,4 (0,5-4,2)	3,5 (2,2-5,2)	3,8 (2,5-6,0)	4,3 (2,5-7,8)	7,4 (5,1-9,0)
Lattosio (g/100g)	6,6 (5,6-7,4)	6,6 (5,8-7,2)	7,1 (6,0-9,0)	4,8 3,6-5,5	4,4 (3,9-6,3)	4,8 (3,7-5,5)
Ceneri (g/100g)	0,4 (0,4-0,5)	0,4 (3-5)	0,2 (0,2-0,3)	0,7 (0,6-0,9)	0,8 (0,7-1,1)	0,9 (0,7-1,0)
Energia (kcal/kg)	320-510	410-740	430-1150	590-701	580-740	930-1080
Proteine (g/100g)	1,7 (1,4-2,2)	2,0 (1,4-3,4)	1,2 (0,8-1,5)	3,4 (2,9-5,0)	3,6 (2,5-5,1)	5,7 (5,0-6,5)
Caseina totale (g/100g)	0,8 (0,6-1,0)	1,3 (0,8-1,4)	(0,2-0,4)	2,6 (2,4-2,8)	3,0 (2,3-3,8)	4,8 (4,1-6,6)
α_{S1} -caseina (%)	35,6	22 (17-47)	0,4	41 (31-58)	(4,5-34)	26 (7-40)
α_{S2} -caseina (%)	7,2	2		11 (7-15)	16 (9-25)	14 (12-23)
β -caseina (%)	54,3	73 (46-79)	(60-70)	33 (28-38)	56 (34-64)	42 (34-62)
k-caseina (%)	2,8	25 (2-8)	7	12 (9-20)	13 (10-19)	10 (7-23)
γ -caseina (%)				5 (4-8)	(5-6)	
Proteine del siero (g/100g)	0,6 (0,5-0,9)	0,8 (0,7-1,0)	(0,6-0,8)	0,6 (0,5-0,7)	0,5 (0,3-1,2)	1,1 (0,8-1,6)
β - lattoglobulina (%)	46,7 (30-57)	34 (17-50)		51 (33-67)	47 (34-77)	51 (28-72)
α - lattealbumina (%)	28,0 (23-33)	29 (17-42)	37 (28-50)	20 (16-25)	27 (17-50)	25 (13-45)
Sieroalbumina (%)	(6-7)	4 (3-5)	6	(6-7,5)	(5-22)	6
Immunoglobulina (g/kg)	1,3	0,4-2,5	0,6-1,8	0,15-1,0	0,15-0,5	0,5-0,7
Lisozima (mg/kg)	1.000-3.700	800	400-500	0,1-0,35	0,25	0,10
Lattoferrina (g/kg)	0,3	0,6-1,3	0,7-1,7	0,02-0,5	0,02-0,3	0,7-0,9
NPN (% su azoto totale)	11-25	10-15	20-25	3-8	7-12	6-9
Rapporto caseina/proteine del siero	1,2	1,3	0,7	4,5	4	4,4

(Rielaborato da Alichanidis et al., 2016; Cosenza et al., 2019; Martini et al., 2019)

Le proteine del siero, costituite principalmente da β – lattoglobulina, α – lattealbumina, immunoglobulina e siero albumina, rappresentano la frazione proteica che rimane solubile anche dopo la precipitazione isoelettrica delle caseine (Alichanidis et al., 2016). Il latte di asina ha un rapporto caseine/proteine del siero intorno a 1,2, nettamente inferiore a quello dei ruminanti, dove le caseine rappresentano la frazione proteica maggioritaria. Le proteine del siero hanno un maggior valore nutrizionale rispetto alle caseine, grazie ad un maggior contenuto in aminoacidi solforati. In generale risultano sensibili al calore che ne provoca la denaturazione, anche se è stata dimostrata una maggiore resistenza delle sieroproteine del latte di asina rispetto a quelle del latte bovino (Uniacke-Lowe, et al., 2010).

Nel latte di asina rivestono una notevole importanza altre due componenti proteiche: la lattoferrina ed il lisozima.

La lattoferrina è una metallo-proteina glicosidata, legata al ferro che possiede attività antimicrobiche e antivirali. Sui batteri agisce sulla parete cellulare sequestrando il ferro rendendola permeabile, mentre sui virus agisce legandosi in maniera stabile alle proteine della capsula.

Per quanto riguarda l'attività antimicrobica, il composto più importante è il lisozima, che, indicato come Muramidasi (peptidoglicano N-acetilmuramoidrolasi, EC 3.2.1.17), è un enzima in grado di provocare la lisi della parete dei batteri Gram-positivi idrolizzando il legame glicosidico β (1,4) tra acido N-acetilmuramico (NAM) e N-acetilglucosammina (NAG) del peptidoglicano, costituente della parete cellulare batterica. La concentrazione di lisozima è notevolmente superiore a quello di altre specie lattifere e varia tra 1 e 3,7 g/kg in funzione della razza e dello stadio di lattazione: nelle prime fasi risulta più elevato per poi diminuire negli stadi avanzati (Martini et al., 2019).

L'elevata concentrazione di lisozima interferisce sulla crescita microbica: se da un lato questo aspetto può essere un vantaggio per il controllo di microrganismi indesiderati, dall'altro può ostacolare il normale decorso delle fermentazioni dei prodotti lattiero caseari, siano essi bevande fermentate o formaggi (Chiavari et al., 2005; Vincenzetti et al., 2008).

Se si sottopone il latte di asina a trattamenti sanitizzanti di pastorizzazione o di alte pressioni, l'attività del lisozima non risulta compromessa (Addo e Ferragut 2015). Le temperature ed i tempi ordinari di pastorizzazione (63°C per 20'; 75°C per 2') non denaturano infatti il lisozima, mantenendone intatta l'attività antimicrobica (Chiavari et al., 2005; Ozturkoglu-budak 2018; Cosentino et al., 2016). Temperature di trattamento più elevate, unite a tempi prolungati (85°C per 2') possono tuttavia ridurre l'attività del lisozima a meno della metà (Ozturkoglu-budak 2018), ma non sono giustificate da esigenze igieniche nella trasformazione casearia.

Il latte di asina ha un contenuto in ceneri inferiori a quello dei ruminanti e tra i minerali presenti due in particolare hanno un notevole importanza tecnologica nell'ambito della coagulazione presamica: il calcio ed il fosforo.

Nonostante la presenza di composti antimicrobici (lisozima e lattoferrina), l'impiego del latte di asina nell'industria lattiero casearia non prescinde dalla necessità di un processo termico per limitarne la carica microbica, che comunque è stato dimostrato essere, in genere, contenuta (Mottola et al., 2018).

BEVANDE FERMENTATE E PROBIOTICHE

I latt fermentati rappresentano una categoria di prodotti tradizionali, tipici dei popoli delle catene montuose dell'Asia, del Medio Oriente, del Nord Africa e dei paesi nordici, la cui origine si perde nella notte dei tempi. A seconda delle abitudini e delle latitudini, alla produzione di latte fermentato sono destinati i latt di diverse specie: bovine, giumente, yak, cammelle,

bufale, capre, pecore, ecc... La fermentazione di questi prodotti vede coinvolti principalmente i batteri lattici, appartenenti ai generi *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, e *Streptococcus*, che acidificano il latte portandolo a pH di sicurezza per cui, salvo rare eccezioni, i lattici fermentati possono essere considerati sicuri dal punto di vista igienico anche senza aver subito alcun trattamento termico. Alcuni lattici fermentati mostrano anche attività fermentativa da parte dei lieviti, con produzione di alcol (Mayo et al., 2010).

Non si conosce la tradizione di una latte di asina fermentato, ma è ben noto che il koumiss veniva prodotto con latte di cavalla già a partire dal XIII secolo dalle tribù nomadi della Mongolia, dove il cavallo rappresentava una risorsa fondamentale per gli spostamenti delle popolazioni nelle steppe asiatiche (Montanari et al., 1996). La fermentazione del koumiss è di tipo acido-alcolica, con la partecipazione di batteri lattici (principalmente *Lb. casei*, *Lb. helveticus*, e *Lb. plantarum*) e lieviti (*Kluyveromyces fragilis* e *Saccharomyces unisporus*). Il contenuto in alcol è di circa il 3% e la possibilità che la fermentazione alcolica prosegua durante la conservazione lo rende spesso anche leggermente frizzante per la presenza di CO₂.

Uno degli obiettivi più importanti nella produzione di una bevanda fermentata è quello di poterla sfruttare come veicolo di microrganismi probiotici, sia come attori della fermentazione, sia se aggiunti successivamente alla fermentazione.

Secondo la definizione generalmente accettata, formulata da un tavolo di lavoro della FAO, per probiotico si intende qualsiasi "Microrganismo vivo che, somministrato in adeguata quantità, conferisce benefici alla salute dell'ospite" (FAO/WHO 2002). Per poter esercitare la loro funzione, i microrganismi probiotici devono tuttavia essere in grado di colonizzare il tratto gastrointestinale dell'ospite.

I benefici apportati dall'assunzione di ceppi probiotici sono diversi: miglioramento della digestione del lattosio, prevenzione delle diarree, modulazione del sistema immunitario, riduzione del colesterolo, prevenzione delle infezioni urogenitali, del tumore al colon e del morbo di Cronh.

Le specie microbiche riconosciute come aventi proprietà probiotiche sono diverse, principalmente appartenenti ai gruppi microbici dei batteri lattici, dei bifidobatteri, al genere *Bacillus* e ai lieviti. Tra i batteri lattici, il genere *Lactobacillus* è quello al quale le caratteristiche probiotiche sono riconosciute da più tempo, specialmente per le specie *L. acidophilus*, *L. fermentum*, *L. plantarum*, *L. casei*, *L. paracasei*, *L. reuteri*, *L. rhamnosus*, e *L. johnsonii*. Oltre a *Lactobacillus*, proprietà probiotiche sono state attribuite anche ai generi *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, e *Leuconostoc*. Negli ultimi anni i ricercatori hanno posto molta attenzione sulle caratteristiche probiotiche del genere *Bifidobacterium*, ospite comune dell'uomo e degli animali tanto che diverse specie (*Bf. adolescentis*, *Bf. animalis*, *Bf. bifidum*, *Bf. breve*, e *Bf. longum*) sono impiegate come probiotici in prodotti lattiero-caseari come yogurt, latte e formaggi. Nel genere *Bacillus*, *B. subtilis* e *B. clausii* e tra i lieviti *Saccharomyces boulardii* sono le specie impiegate normalmente dall'industria farmaceutica in preparati probiotici (de Melo Pereira et al., 2018).

I microrganismi destinati all'impiego come probiotici devono essere oggetto di attenta valutazione al fine di certificarne la piena idoneità. Così come le colture starter, i ceppi probiotici devono essere riconosciuti appartenere a specie inserite dall'EFSA nella lista degli organismi QPS (*Qualified presumption of safety*, presunzione qualificata di sicurezza), vale a dire il ceppo in esame deve soddisfare 4 requisiti: identificazione tassonomica certa, esistenza di una letteratura sufficiente a garantirne la sicurezza, assenza documentata di patogenicità e devono essere descritte dettagliatamente le modalità di impiego. Una volta avuto il parere positivo dall'EFSA il microrganismo può essere impiegato dall'industria alimentare (EFSA, 2008).

L'individuazione delle caratteristiche probiotiche di un ceppo candidato avviene attraverso una serie di esami. Il primo esame riguarda la resistenza agli stress legati al transito nel tratto gastro-intestinale, quali la tolleranza agli enzimi della saliva (amilasi e lisozima), alle condi-

zioni antimicrobiche tipiche dello stomaco (basso pH, pepsina) e dell'intestino (pancreatina e sali di bile). Una volta dimostrata la resistenza a questi fattori, il ceppo candidato deve dimostrare capacità di aderire e colonizzare le cellule epiteliali del tratto gastro-intestinale dell'ospite. Dopo l'adesione, i probiotici devono essere in grado di limitare i microrganismi patogeni, tramite competizione con questi o per produzione di composti ad attività antimicrobica, quali acidi organici, enzimi, perossido di idrogeno, batteriocine e peptidi.

Il latte di asina potrebbe costituire un ottimo veicolo per l'assunzione di ceppi probiotici che possono essere impiegati in fermentazione o aggiunti successivamente. La proposta di una bevanda fermentata a base di latte di asina risale ai primi anni 2000, quando i consumatori cominciarono a maturare le esigenze nei confronti di prodotti innovativi e con caratteristiche nutraceutiche e probiotiche (Tabella 2). Il latte di asina costituisce sicuramente un ottimo substrato per la crescita microbica, che tuttavia può essere limitata dall'attività antimicrobica del lisozima, presente in concentrazioni elevate (Chiavari et al., 2005).

Coppola et al., (2002) hanno valutato la possibilità di impiegare ceppi probiotici di *Lactobacillus rhamnosus* che hanno assicurato una rapida acidificazione del latte e sono rimasti vivi e vitali nel mezzo a pH 3,7-3,8 per 15°C a 4°C. Questi primi dati hanno aperto la strada per ulteriori studi per l'ottenimento di una bevanda fermentata.

Uno studio successivo (Nazzaro et al., 2010) è stato esteso ad altre specie del genere *Lactobacillus*, in particolare oltre a *Lb. rhamnosus* è stata valutata la capacità fermentativa di *Lb. acidophilus*, *Lb. bulgaricus*, *Lb. paraplantarum*, *Lb. plantarum*, e *Lb. pentosus*. Le specie che si sono dimostrate più vigorose, in grado dunque di abbassare il pH in maggior misura nelle 24/48 ore, si sono dimostrate *L. plantarum*, *L. pentosus* e *L. paraplantarum* in grado di portare il pH a livelli inferiori a 4 in 48 ore. Nel lavoro in questione sono stati impiegati i ceppi tipo delle rispettive specie, per cui non si può escludere che esistano ceppi di altre specie maggiormente idonei ed il latte di asina crudo può rappresentare una fonte di isolamento dove individuare ceppi maggiormente adattati alla matrice.

I prodotti ottenuti in queste prime sperimentazioni sono stati caratterizzati per quanto riguarda la vitalità durante la conservazione dei ceppi impiegati e sono stati caratterizzati da un punto di vista sensoriale. Sotto questo aspetto hanno mostrato alcuni limiti legati all'eccessiva percezione di acidità e alla separazione del siero. A tal fine, Tidona et al. (2015) consigliano di fermare la fermentazione a pH 5,0 per prevenire la precipitazione delle caseine e la conseguente separazione del siero. Per ovviare invece all'elevata percezione di acidità, tipica peraltro dei latti fermentati, è stato suggerito l'aggiunta di miele, in grado di apportare alla bevanda dolcezza e di migliorarne i caratteri olfattivi (Perna et al., 2019).

Streptococcus thermophilus possiede una notevole capacità fermentativa ed è spesso impiegato come coltura starter per la produzione dei formaggi oppure, in associazione con *Lactobacillus delbruekii* subsp. *bulgaricus* nella produzione di yogurt. La possibilità di ottenere yogurt, sia da latte equino (Di Cagno et al., 2004) che da latte di asina (Perna et al., 2015) è stata ampiamente validata. Diversi ceppi di *St. thermophilus* producono esopolisaccaridi in grado di migliorare la viscosità del prodotto fermentato che ne ha consigliato l'impiego nel latte di asina per migliorarne le caratteristiche reologiche (Tidona et al., 2015). Lo yogurt prodotto con latte di asina può essere veicolo per la somministrazione di ceppi probiotici di *Lb. acidophilus* e *Lb. casei* con un prodotto che è risultato valido da un punto di vista sensoriale e dall'alto potere antiossidante (Perna et al., 2015).

Tra i batteri lattici, anche alcune specie di *Enterococcus*, *Ec. faecium* in particolare, si sono mostrate in grado di fermentare il latte di asina, incrementando le capacità antiossidanti della bevanda fermentata. La bevanda ottenuta con il ceppo *Lactobacillus casei* DM214 ha invece mostrato un'alta attività come ACE - inibitore nel contrasto dell'ipertensione (Aspri et al., 2018).

L'aggiunta di olio al latte di asina può aumentarne il contenuto in grassi in modo che l'apporto energetico sia equivalente al latte umano. Partendo da questo presupposto, è stato suggerito l'impiego di olio di girasole in una bevanda fermentata a base di latte di asina; la scelta del girasole è stata dettata dal suo profilo aromatico neutro e dalla ricchezza in acido linoleico e α -tocoferolo. La coltura starter impiegata è costituita da una miscela di due ceppi di *St. thermophilus*, uno produttore di esopolisaccaridi che aumentano la viscosità della bevanda e l'altro produttore di acido folico (Tidona et al., 2015).

Il kefir è una bevanda a base di latte, viscosa, acida e moderatamente alcolica (meno del 2% di etanolo) ottenuta grazie alla fermentazione dai parte dei granuli di kefir, granuli rugosi, simili ad un cavolfiore, di color crema costituiti da polisaccaridi e contenenti una comunità microbica stabile. I microrganismi che la compongono appartengono a diversi gruppi microbici (batteri lattici, batteri acetici, lieviti) in una complessa relazione simbiotica, non ancora ben definita (Mayo et al., 2010).

Recentemente è stato suggerito l'impiego dei granuli di kefir per la fermentazione anche del latte di asina (Perna et al., 2019). Per migliorare le caratteristiche antiossidanti e sensoriali del prodotto, gli Autori hanno provato l'aggiunta di miele di sulla o di olio essenziale di rosmarino. L'attività antiossidante è notevolmente aumentata, grazie all'aggiunta dei due ingredienti ricchi di polifenoli, e si è mantenuta durante la shelf-life della bevanda, raggiungendo il massimo dopo 15 giorni. L'unico limite mostrato è stata la limitata gradevolezza del kefir aggiunto di rosmarino, rispetto a quello prodotto con miele di sulla.

I lavori citati concordano su di un aspetto fondamentale: il latte di asina costituisce una materia prima di sicuro interesse per le proprietà intrinseche per l'ottenimento di prodotti funzionali ad alto valore aggiunto. La strategia adottata è comunque sempre quella di aggiungere o ceppi microbici dotati di attività probiotica o composti in grado di aumentare il valore nutrizionale della bevanda.

Tab. 2 - principali lavori sulla messa a punto di bevande fermentate a base di latte di asina

Tipologia di bevanda	Starter impiegato	Caratteristiche principali	Fonte
Latte fermentato	4 ceppi di <i>Lb. rhamnosus</i> (AT 194, GT1/1, GT 1/3, RBM 514)	buona persistenza dei ceppi in conservazione	Coppola et al., 2002
Latte fermentato	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> AT 194, CLT 2/2, e <i>Lactobacillus casei</i> LC 88,	descrizione sensoriale della bevanda	Chiavari et al., 2005
Latte fermentato	<i>Lb. acidophilus</i> , <i>Lb. bulgaricus</i> , <i>Lb. paraplantarum</i> , <i>Lb. plantarum</i> , <i>Lb. pentosus</i> e <i>Lb. rhamnosus</i> ,	produzione di acidi grassi a corta catena	Nazzaro et al., 2010
Latte fermentato	<i>St. thermophilus</i> St 907 + <i>St. thermophilus</i> St 563	aggiunta di olio di girasole per aumentare l'apporto energetico e migliorare la texture	Tidona et al., 2015
Yogurt	<i>St. thermophilus</i> + <i>Lb. delbruekii subsp. bulgaricus</i>	buone caratteristiche sensoriali e attività antiossidante	Perna et al., 2015
Yogurt probiotico	<i>St. thermophilus</i> + <i>Lb. delbruekii subsp. bulgaricus</i>	Aggiunta di ceppi probiotici di <i>Lb. acidophilus</i> e <i>Lb. casei</i> ed elevata attività antiossidante	Perna et al., 2015

Tipologia di bevanda	Starter impiegato	Caratteristiche principali	Fonte
Bevanda fermentata con proprietà bioattive	<i>Enterococcus faecium</i> <i>E. gallinarum</i> , <i>E. lactis</i> , <i>E. mundii</i> <i>Lb. casei</i> DM214 <i>Leuc. mesenteroides</i> DM 236	individuazione	Aspri et al., 2018
Kefir	granulo di kefir		Perna et al., 2019
Kefir con miele di sulla	granulo di kefir	aggiunta di miele di sulla che migliora le caratteristiche sensoriali e antiossidanti	Perna et al., 2019
Kefir con olio essenziale di rosmarino	granulo di kefir	aggiunta di olio essenziale di rosmarino per migliorare le caratteristiche antiossidante	Perna et al., 2019

Messa a punto di una tecnologia

In un recente lavoro del nostro gruppo è stata messa a punto e definita la tecnologia per una bevanda probiotica a base di latte di asina, sulla scorta di precedenti esperienze (Chiavari et al., 2005), arrivando anche a definire un layout per il laboratorio aziendale di trasformazione e confezionamento (Bertocchi 2011).

Per arrivare a questo ci si è avvalsi della collaborazione dell'allevamento Montebaducco, posto in provincia di Reggio Emilia che attualmente vende latte di asina e cosmetici a base di latte di asina.

I ceppi impiegati per la preparazione della bevanda fermentata sono stati il ceppo di *Lactobacillus rhamnosus* AT 194, già provato con successo su latte di asina (Coppola et al., 2002; Chiavari et al., 2005) e *Lb. rhamnosus* C1112, ceppo vigoroso e dotato di attività probiotica (Grazia et al., 2008).

Per ottenere una rapida e sicura fermentazione, l'attenzione si è focalizzata sull'adattamento dei ceppi alla matrice grazie ad un doppio inoculo seriale in latte di asina sterilizzato (110°C per 10'). In questo modo il ceppo C1112 ha ottenuto l'acidificazione del mezzo in 18 ore, metà rispetto ad AT 194. Entrambi i ceppi sono comunque rimasti vivi e vitali per almeno 30 giorni, durante la conservazione a 4°C, con conteggi ancora intorno a 10⁸ UFC/ml a 30 giorni. I lattici fermentati sono stati sottoposti a valutazione sensoriale sia da un panel non addestrato, che ha fornito un giudizio esclusivamente edonistico, sia da un panel addestrato, che ne ha valutato il profilo sensoriale. Da un punto di vista edonistico, il latte fermentato dal ceppo AT 194 ha mostrato caratteristiche maggiormente apprezzate. La percezione eccessiva di acidità è stato il limite riscontrato dal panel non addestrato, confermato dal profilo sensoriale del panel addestrato. I due profili sensoriali differiscono per alcuni descrittori, quali odori ed aromi vegetali ed animali e sapore acido, che sono risultati maggiori per il ceppo C1112. Questo ceppo, pur valido da un punto di vista tecnologico, ha rilevato alcuni limiti da un punto di vista sensoriale che possono essere ovviate grazie all'aggiunta di caramello.

Il lavoro si conclude con la proposta di una nuova tecnologia, che prevede la costituzione di una coltura madre di 5 litri, necessaria per inoculare al 10% un volume di 50 litri, prodotto dalla mungitura giornaliera di 30/40 asine in lattazione. Per la fermentazione viene suggerito l'impiego di una fermentiera da yogurt, opportunamente regolata.

FORMAGGI

Al contrario di quanto avvenuto nel corso dei millenni per le altre specie lattifere (bovini, ovini e caprini), che sono state addomesticate allo scopo di sfruttarne il latte e dove il formaggio rappresentava un mezzo di conservazione dei principi nutritivi del latte stesso, l'impiego del latte di asina in caseificazione non è certamente una tradizione perché, come già detto in precedenza, questo latte non rappresenta un substrato idoneo all'attività del caglio. La possibilità di ottenere una cagliata valida da un punto di visto tecnologico rappresenta infatti il principale ostacolo all'ottenimento di un formaggio a base di latte di asina.

La k-caseina, posta sulla superficie della micella caseinica, rappresenta il substrato su cui agisce la chimosina del caglio rompendo il legame Phe₁₀₅-Met₁₀₆. Nel latte degli Equidi, così come nel latte umano, la chimosina agisce anche, e preferibilmente, sul legame Phe₉₇-Ile₉₈. Il caseinmacropeptide risultante è meno idrofilo rispetto a quello bovino e di conseguenza la sua migrazione nel siero risulta molto più lenta. Inoltre sembra accertato che ci sia una minore affinità della chimosina con la k-caseina del latte di asina a causa della scarsa esposizione dei legami chimosina-sensibili sulla superficie della micella (Uniacke-Lowe et al., 2010).

Il pH è un parametro importante da controllare per favorire la coagulazione: una piccola acidificazione del latte (pH 6,2-6,4) porta ad un rassodamento più rapido e ad una consistenza migliore della cagliata (Fox et al., 2000). Come noto, l'acidificazione del latte è assicurata dall'attività fermentativa delle colture starter naturali o selezionate. Tra le selezionate si impiegano colture congelate o liofilizzate di ceppi selezionati di *St. thermophilus* o di diverse specie del genere *Lactobacillus* mesofile o termofile, in grado di acidificare velocemente il latte. L'aggiunta di colture naturali (sieroinnesto, lattoinnesto o scottainnesto), oltre ad apportare una popolazione mista di batteri lattici vivi e vitali, apporta direttamente acidità.

Nello specifico, l'impiego delle colture starter è imprescindibile anche nella produzione di formaggi a partire dal latte di asina, per dar luogo sia all'acidificazione del latte durante la sosta di caldaia, prima dell'aggiunta del caglio, che successivamente, a quella della cagliata durante la maturazione ed eventuale stagionatura. I lavori esaminati hanno previsto l'impiego di colture selezionate del commercio, ma nulla vieta di adottare l'impiego di colture naturali, tra cui probabilmente il lattoinnesto potrebbe rappresentare la soluzione migliore, così come abbiamo proposto per l'inoculo delle bevande fermentate.

Il primo formaggio prodotto a partire esclusivamente da latte di asina è stato ottenuto da Iannella (2015) che ha impiegato caglio di cammello per ottenere un coagulo valido dopo 5 ore di sosta, pur con una resa di caseificazione certamente molto bassa (3,32%). Questo primo importantissimo risultato ha dato seguito ad una serie di lavori destinati a migliorare la tecnologia, cercando di incrementare le rese per rendere economico il processo. Un primo passo è stato compiuto dallo stesso gruppo di ricerca che ha suggerito il riscaldamento della cagliata individuando in 46°C il livello ottimale per favorire il rassodamento del coagulo (Faccia et al., 2018).

Sampaio (2017) ha messo a punto una tecnologia che prevede l'impiego di cipsosina estratta dal fiore di carciofo (*Cynara cardunculus* L.), già impiegato come caglio per la produzione di diversi pecorini della tradizione spagnola e portoghese, mentre in Italia, impiegato in passato per il Fiore Sardo, si sta diffondendo come alternativa etica all'impiego di caglio animale. Grazie alla spiccata attività proteolitica del caglio vegetale, la maturazione risulta accelerata, originando formaggi meno duri e dalla consistenza burrosa. Un ulteriore vantaggio, da un punto di vista funzionale, è che le proteasi vegetali producono peptidi bioattivi dalla demolizione delle caseine.

Tra i parametri tecnologici individuati dall'Autore, l'aggiunta di una massiccia dose di calcio è risultata determinante per l'ottenimento di una cagliata destinata alla produzione di un formaggio che, a 5 giorni di stagionatura a 4°C, ha mostrato una resa del 6,25%. Il cloru-

ro di calcio è infatti un coadiuvante normalmente impiegato nell'industria lattiero-casearia che assicura il necessario apporto di ioni calcio, necessari all'aggregazione delle micelle a seguito dell'azione della chimosina (Fox et al., 2000). Per questo motivo l'aggiunta di cloruro di calcio è raccomandata per la produzione di formaggi da latte d'asina, con una dose variabile tra 30 g/100 kg di latte (Faccia et al., 2018; D'Alessandro et al., 2019) e 100 g/100 kg (Sampaio 2017).

Anche l'enzima transglutaminasi, impiegato nell'industria dello yogurt come addensante, è stato proposto come coadiuvante del caglio microbico, ai fini di migliorare la resa e le caratteristiche strutturali del formaggio (D'Alessandro et al., 2019). Gli Autori hanno suggerito l'impiego dell'enzima in contemporanea con l'aggiunta di caglio, con una resa finale prossima al 7%, senza che questo influenzi le caratteristiche sensoriali.

L'ultimo lavoro (Faccia et al., 2020) uscito sull'argomento, grazie all'impiego di caglio microbico è stata ottenuta una resa superiore al 7%, imputata dagli autori principalmente ad un discreto contenuto in proteine del latte di partenza. La consistenza della cagliata ottenuta suggerisce che il latte di asina può essere comunque impiegato esclusivamente per la produzione di formaggi freschi; a parità di tecnologia il formaggio di confronto prodotto con latte vaccino è risultano maggiormente idoneo alla stagionatura, con una resa di tre volte superiore. Al contrario, da un punto di vista sensoriale, il formaggio fresco da latte di asina è stato ritenuto più gradevole rispetto all'omologo da latte bovino.

Una soluzione ottimale per caseificare il latte di asina è il suo impiego in miscela con latti di altre specie in modo da ovviare ai limiti tecnologici e valorizzarne le ottime caratteristiche nutrizionali; per questo motivo è stata proposta la miscela con latte di capra, che presenta anch'esso ottime caratteristiche nutrizionali (Šarić et al., 2016; Faccia et al., 2018).

La tecnologia messa a punto da Šarić et al. (2016) ha previsto l'impiego di una miscela latte di asina/latte di capra 60:40, con una tecnologia simile a quella impiegata nella produzione di formaggi caprini a pasta dura. Dal confronto con il formaggio prodotto esclusivamente con latte caprino è emerso come, a parità di sostanza secca, il formaggio sperimentale risulti più magro. Il ridotto contenuto in grassi è da mettere in relazione con l'impiego del 60% di latte di asina, con un titolo in grasso del 0,3-1,8% che riduce notevolmente il contenuto in grasso della miscela con latte caprino, il cui contenuto è superiore al 4%. A livello sensoriale, i principali descrittori strutturali sono influenzati dalla particolare composizione in termini di umidità, grasso e composizione in acidi grassi. L'umidità, inferiore a quella del corrispondente formaggio caprino, unita ad un minor contenuto in grassi totali e superiore in acidi grassi saturi esalta le percezioni di durezza e friabilità. La leggera adesività, al termine della maturazione, può essere messa in relazione ad un elevato livello di proteolisi, rilevato anche dall'elettroforesi della frazione proteica. Gli Autori concludono il lavoro affermando che l'elevato contenuto in acidi grassi a media catena e di magnesio e potassio permetta di pensare a questo formaggio come ad un prodotto funzionale.

I risultati esposti sono stati confermati da Faccia et al., (2018) che hanno confrontato due miscele capra/asina (15:85 e 30:70) con latte di asina al 100%. In questo caso, il latte di capra aggiunto in quantità inferiore, può essere considerato quasi come un coadiuvante per migliorare le caratteristiche della cagliata e, di conseguenza, del formaggio ottenuto. Naturalmente la resa è in funzione della concentrazione in latte di capra: il formaggio con solo latte di asina ha mostrato una resa del 5,9% che sale all'8,1% nel caso di un'aggiunta del 15% del latte di capra e al 10,6 con il 30%. L'aumento di resa è legato a quello della sostanza secca e tali differenze sono percepibili anche a livello sensoriale con miglioramento della consistenza, suggerendo che il formaggio può essere destinato anche a breve stagionatura per ottenere un formaggio di tipo semiduro.

Grazie all'elevato contenuto in lisozima, il latte di asina può essere impiegato nell'industria lattiero-casearia, non solo come materia prima, ma anche come additivo per il controllo

dei clostridi al posto dell'impiego di lisozima di uovo, per il quale è prevista l'indicazione in etichetta della presenza di allergeni, ai sensi del Reg. CE 1129/2011. In un recente lavoro Niro et al., (2017) hanno suggerito l'impiego di latte di asina in ragione del 2% per ottenere una concentrazione in lisozima pari a quella normalmente impiegata nella produzione di Grana Padano con lisozima da uovo.

Grazie alle considerazioni di cui sopra, si può dunque affermare che sia possibile produrre formaggi da latte di asina con alto valore aggiunto come reddito alternativo per gli allevamenti che producono latte di asina.

BIBLIOGRAFIA

- EFSA, European Food Safety Authority (2008) The Maintenance of the List of QPS Microorganisms Intentionally Added to Food or Feed - Scientific Opinion of the Panel on Biological Hazards. *EFSA Journal* 6 (12). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2008.923>.
- Addo C. N.A., Ferragut V. (2015) Evaluating the Ultra-High Pressure Homogenization (UHPH) and Pasteurization Effects on the Quality and Shelf Life of Donkey Milk. *Int. J. Food Stud.* 4 (1): 104-15. <https://doi.org/10.7455/ijfs.v4i1.271>.
- Alichanidis E. Moatsou G., Polychroniadou A. (2016) *Composition and Properties of Non-Cow Milk and Products. Non-Bovine Milk and Milk Products*. In: Tsakalidou E., Konstantinos Papadimitriou K. (Eds), Non-Bovine Milk and Milk Products, Academic Press, Londra (UK).
- Aspri M., Leni G., Galaverna G., Papademas P. (2018). Bioactive Properties of Fermented Donkey Milk, before and after in Vitro Simulated Gastrointestinal Digestion. *Food Chem.* 268: 476-84.
- Bertocchi, M. (2011) Allestimento di un laboratorio aziendale per la preparazione di una bevanda fermentata da latte di asina. Tesi di Laurea, *Alma Mater Studiorum - Università di Bologna*.
- Chiavari, C., Coloretti F., Nanni M., Sorrentino E., Grazia L. (2005) Use of Donkey's Milk for a Fermented Beverage with Lactobacilli. *Lait* 85 (6):481-490 <https://doi.org/10.1051/lait:2005031>.
- Coppola, R., Salimei E., Succi M., Sorrentino E., Nanni M., Ranieri P., Belli Blanes R., Grazia L. (2002) Behaviour of *Lactobacillus rhamnosus* Strains in Ass's Milk." *Ann. Microbiol.* 52 (1): 55-60.
- Cosentino C., Labella C., Elshafie H.S., Camele I., Musto M., Paolino R., D'Adamo C., Freschi P. (2016) Effects of Different Heat Treatments on Lysozyme Quantity and Antimicrobial Activity of Jenny Milk." *J. Dairy Sci.* 99 (7): 5173-79. <https://doi.org/10.3168/JDS.2015-10702>.
- Cosenza G., Mauriello R., Garro G., Auzino B., Iannaccone M., Costanzo A., Chianese L., Paucillo A. (2019) Casein Composition and Differential Translational Efficiency of Casein Transcripts in Donkey's Milk *Journal Dairy Res.*, 86:201-207. <https://doi.org/10.1017/S0022029920000035>.
- D'Alessandro, A. G., Martemucci G., Loizzo P., Faccia M. (2019) Production of Cheese from Donkey Milk as Influenced by Addition of Transglutaminase." *J. Dairy Sci.* 102 (12): 10867-76. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16615>.
- de Melo Pereira G. V., de Oliveira Coelho B., Magalhães Júnior A. I., Thomaz-Soccol V., Soccol C.R.(2018) How to Select a Probiotic? A Review and Update of Methods and Criteria. *Biotechnol. Adv.* 36 (8): 2060-76. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.09.003>.

- Di Cagno, R., Tamborrino A., Gallo G., Leone C., De Angelis M, Faccia M., Amirante P., Gobbeti M. (2004) Uses of Mares' Milk in Manufacture of Fermented Milks. *Int. Dairy J.* 14 (9): 767-75. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2004.02.005>.
- Faccia, M., Gambacorta G., Martemucci G., Natrella G., D'Alessandro A.G. (2018) "Technological Attempts at Producing Cheese from Donkey Milk. *J. Dairy Res.* 85 (3): 327-30. <https://doi.org/10.1017/S0022029918000420>
- Faccia, M., Gambacorta G., Martemucci G., Difonzo G., D'Alessandro A.G. (2020) Chemical-Sensory Traits of Fresh Cheese Made by Enzymatic Coagulation of Donkey Milk. *Foods* 9 (1): 1-13. <https://doi.org/10.3390/foods9010016>.
- FAO / WHO (2002) Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. In: *Report of a Joint FAO/WHO Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food*, 1-11. London Ontario, Canada.
- Fox, P. F., McSweeney P. L. H., Cogan T. M., Timothy P. Guinee. T. P. (2000). *Fundamentals of Cheese Science*. Springer-Verlag, Maryland (USA).
- Grazia L., Chiavari C., Ferri G., Coloretti F. (2008) Aspetti tecnologici di un latte arricchito-primi risultati. In: *Latte bovino come alimento funzionale per l'anziano*. Ancona, 7 giugno 2008.
- Iannella, G. (2015) "Donkey cheese made through pure camel chymosin." *Afr. J. Food Sci.* 9 (7): 421-25. <https://doi.org/10.5897/ajfs2015.1322>.
- Martini M., Salari F., Licitra R., La Motta C., Altomonte I. (2019) Lysozyme Activity in Donkey Milk. *Int. Dairy J.* 96: 98-101. <https://doi.org/10.1016/J.IDAIRYJ.2019.04.009>.
- Mayo, B., Ammor M. S., Delgado S., Alegría A. (2010) Fermented Milk Products. In: Tamang J. P., Kailasapathy K. (Eds.) *Fermented Foods and Beverages of the World*, CRC Press, 263-288. New York (USA).
- Montanari G., Zambonelli C., Grazia L., Kamesheva G. K., Shigaeva M.K.H. (1996) *Saccharomyces unisporus* as the Principal Alcoholic Fermentation Microorganism of Traditional Koumiss. *J. Dairy Res.* 63 (2): 327-31. <https://doi.org/10.1017/S0022029900031836>.
- Mottola A., Alberghini L., Giaccone V., Marchetti P., Tantillo G., Di Pinto A. (2018) Microbiological Safety and Quality of Italian Donkey Milk. *J. Food Safety* 38 (3): e12444. <https://doi.org/10.1111/jfs.12444>.
- Nazzaro F., Fratianni G. Orlando P., Coppola R. (2010) The Use of Probiotic Strains in the Production of a Donkey Milk-Based Functional Beverage. *Int. J. Prob. Preb.* 5 (2): 91-96.
- Niro S., Fratianni A., Colavita G., Galassi L., Zanazzi M., Salimei E. (2017). Technological Use of Donkey Milk in Cheesemaking. *Int. J. Dairy Tech.* 70 (3): 439-42. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12342>.
- Ozturkoglu-budak, S. (2018) Effect of Different Treatments on the Stability of Lysozyme, Lactoferrin and b -Lactoglobulin in Donkey' s Milk. *Int J Dairy Technol* 71:36-45.
- Perna A., Intaglietta I., Simonetti A., Gambacorta E. (2015) Donkey Milk for Manufacture of Novel Functional Fermented Beverages. *J. Food Sci.* 80 (6): S1352-59. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12862>.
- Perna A., Simonetti A., Gambacorta E. (2019) Phenolic Content and Antioxidant Activity of Donkey Milk Kefir Fortified with Sulla Honey and Rosemary Essential Oil during Refrigerated Storage. *Int J Dairy Technol* 72 (1): 74-81. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12561>.
- Sampaio P. N. S. (2017) Optimization of Clotting Donkey Milk Using an Aspartic Protease From *Cynara cardunculus* Flowers. *Adv. Dairy Res.* 05:04. <https://doi.org/10.4172/2329-888x.1000190>.
- Šarić L. C., Šarić B. M., Mandić A. I., Hadnađev M. S., Gubić J. M., Milovanović I., Tomić J. M. (2016) Characterization of Extra-Hard Cheese Produced from Donkeys' and Caprine

- Milk Mixture. *Dairy Sci. Technol.* 96 (2): 227-41. <https://doi.org/10.1007/s13594-015-0261-2>.
- Tidona, F., Charfi I., Povo M., Pelizzola V., Carminati D., Contarini G., Giraffa G. (2015) Fermented Beverage Emulsion Based on Donkey Milk with Sunflower Oil. *Int. J. Food Sci. Technol.* 50 (12): 2644-52. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12936>.
- Tidona, F., Camilla Sekse C., Criscione A., Jacobsen M., Bordonaro S., Marletta D., Vegarud G. E.. (2011) Antimicrobial Effect of Donkeys' Milk Digested in Vitro with Human Gastrointestinal Enzymes. *Int. Dairy J.* 21 (3): 158-65. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2010.10.008>.
- Uniacke-Lowe T., Huppertz T., Fox P. F. (2010). Equine Milk Proteins: Chemistry, Structure and Nutritional Significance. *Int. Dairy J.* 20 (9): 609-29. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2010.02.007>.
- Vincenzetti S., Polidori P., Mariani P., Cammertoni N., Fantuz F., Vita A. (2008) Donkey's Milk Protein Fractions Characterization. *Food Chem.* 106 (2): 640-49. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.06.026>.

IL TRATTAMENTO TERMICO DEL LATTE D'ASINA: TECNICHE A CONFRONTO

DANIELA M. SPERA¹, MARIKA PELLEGRINI², ARIANNA SABATINI¹

¹ *Scuola di Scienze del Farmaco e dei Prodotti della Salute, Università di Camerino,
Via Fidanza 15, 62024 Matelica (MC), Italy.*

² *Università degli Studi dell'Aquila, Dipartimento MeSVA, Via Vetoio, 67100 L'Aquila (AQ), Italy*

PREMESSA

Il trattamento termico del latte riveste da sempre un ruolo importante nella lavorazione di tutte le tipologie di latte e viene applicato nell'industria lattiero-casearia per garantire la sicurezza microbica, la conservabilità e l'attività biologica di alcuni dei suoi componenti [Cosentino et al., 2016]. Per il latte d'asina l'impiego di questo processo riveste anche un ruolo essenziale per la sua commercializzazione. L'allevamento di asini sul territorio italiano riguarda solo un totale di 26.000 capi [FAOSTAT, 2012 – Disponibile su: <http://faostat3.fao.org>], allevati in piccole aziende (dai 10 ai 150 asini) con una produzione di circa 1,5 L di latte al giorno per asina, per un totale di 50-100 L al giorno [Giacometti et al., 2016]. A questa limitata produzione di latte va aggiunta anche la mancata presenza di organizzazione logistica della raccolta e distribuzione del prodotto [Giacometti et al., 2016].

In Italia il latte d'asina, configurato come “pharmafood” per le sue proprietà nutrizionali, nutraceutiche e funzionali [Perna et al. 2015], può essere venduto direttamente presso le aziende agricole come latte crudo ma consumato previa bollitura secondo la normativa vigente (D.lgs. 158 del 13/09/2012). Il latte crudo, infatti, presenta solitamente un rischio relativo alla possibile presenza di microrganismi patogeni.

Nel latte d'asina, rispetto al latte di altre specie, è presente un'elevata concentrazione di lisozima che in associazione alla lattoferrina fornisce un'azione battericida, aumentando la shelf life e mantenendo le caratteristiche nutrizionali e organolettiche inalterate per diversi giorni. Queste proprietà antimicrobiche fanno sì che questo prodotto non contenga microrganismi patogeni; tuttavia, questa affermazione può essere condivisa solo parzialmente in quanto intervengono altri fattori connessi alla mungitura e alla conservazione che possono portare alla presenza di contaminazioni [Conte et al. 2019]. Per questo motivo il latte d'asina viene spesso pastorizzato o raramente trattato con Ultra High Temperature (UHT) e venduto in negozi, farmacie o online [Giacometti et al. 2016].

Per i motivi sopra esposti la comunità scientifica pone particolare attenzione alle tecnologie di trattamento ottimali, che riescono a garantire una variazione minima nella composizione chimica al fine di mantenere le proprietà nutrizionali del latte, riducendo la carica microbica a vantaggio della salubrità e di una buona shelf life. I trattamenti termici più comunemente impiegati prevedono: il congelamento, l'omogeneizzazione a pressione ultra alta (che combina la pastorizzazione e il trattamento ad alta pressione), lo spray dryer e la liofilizzazione. Tali trattamenti incidono sullo stato fisico del latte essendo effettuati a temperature estremamente basse, nel caso del congelamento e della liofilizzazione, e a temperature alte nel caso di omogeneizzazione a pressione ultra alta e spray dryer.

Il presente lavoro intende annoverare le principali tecniche di trattamento termico del latte d'asina ed evidenziare come esse impattino sulle principali e peculiari caratteristiche qualitative dello stesso e sulla salubrità in termini microbiologici.

OPERAZIONE UNITARIA DI CONGELAMENTO

Il **congelamento** è una operazione unitaria che consiste nell'abbassare la temperatura dell'alimento al di sotto del suo punto di congelamento, detto anche crioscopico. Durante questo processo una parte dell'acqua dell'alimento viene immobilizzata sotto forma di ghiaccio con conseguente aumento della concentrazione dei soluti nella frazione di acqua non congelata.

Il punto crioscopico del latte di asina varia in base alla stagionalità [Conte 2011] e la variazione stimata (valori medi) su 3 allevamenti nel corso di 6 mesi è la seguente:

- 0.525°C (periodo primaverile/estivo);
- 0.518°C (periodo estivo);
- 0.527°C (periodo autunnale).

Risultati sperimentali e considerazioni sulle prestazioni dell'Operazione Unitaria di Congelamento

In molti lavori scientifici è stata presa in esame l'operazione unitaria di congelamento come trattamento termico stabilizzante del latte d'asina. Tra questi, il lavoro di Polidori e collaboratori [Polidori et al. 2013] ha messo in evidenza gli effetti dell'operazione di congelamento a -20°C (per un periodo di 1, 2 e 3 mesi) sulle caratteristiche nutrizionali del latte d'asina prendendo come riferimento il latte fresco, conservato a 4°C. I risultati ottenuti in questo lavoro hanno evidenziato come il contenuto di α -lattoalbumina e β -lattoglobulina nel latte congelato non hanno registrato un cambiamento significativo, registrando valori simili rispetto al controllo fino a tre mesi di congelamento. La stessa stabilità è stata riscontrata per la quantità di lisozima e l'attività enzimatica, mentre sul latte congelato è stato notato un significativo decremento del contenuto delle caseine e delle proteine totali sin dal primo mese di congelamento.

Alle stesse conclusioni si è giunti nel lavoro di Ozturkoglu [Ozturkoglu 2016] in cui è stato saggiato l'effetto del congelamento a -20°C sul lisozima, sulla lattoferrina, β -lattoglobulina. Anche in questo studio le concentrazioni di queste componenti non sono variate in modo significativo ($P > 0,01$) nel latte d'asino congelato rispetto al latte fresco. Questi risultati sono importanti in quanto confermano che l'operazione di congelamento a -20°C preserva il lisozima e la lattoferrina che hanno, come noto, un importante ruolo nell'inibizione microbica fungendo da antimicrobici rispetto ai lieviti, ai batteri Gram positivi (inclusi i batteri lattici) e batteri Gram negativi. Nel medesimo lavoro è stata inoltre investigata la variazione di alcuni parametri chimici nel latte sottoposto all'operazione di congelamento a -20°C rispetto al latte fresco. Anche per i parametri quali pH, acidità, lattosio, grassi, proteine totali, ceneri e peso secco, non ci sono state sostanziali differenze tra il latte fresco conservato a 4°C ed il latte congelato a -20°C.

OMOGENEIZZAZIONE A PRESSIONE ULTRA ALTA – UHPH

L'Omogeneizzazione a pressione ultra alta (UHPH), combina le operazioni unitarie di omogeneizzazione e di pastorizzazione. L'**Operazione Unitaria di Omogeneizzazione** consiste nel trattamento del latte mediante un omogeneizzatore, raffigurato in Figura 1, costituito da un dispositivo pompante positivo ed una valvola omogeneizzatrice [Middelberg APJ 1995]. Nella valvola omogeneizzatrice il fluido viene forzato in una depressione sotto pressione con un piccolo foro tra la valvola e la sede della valvola. Il fluido lascia il vuoto sotto forma di un getto radiale, che ristagna su un anello di impatto ed esce dall'omogeneizzatore a bassa velocità, essenzialmente a pressione atmosferica. La pressione di esercizio viene controllata regolando la distanza tra la valvola e la sede della stessa.

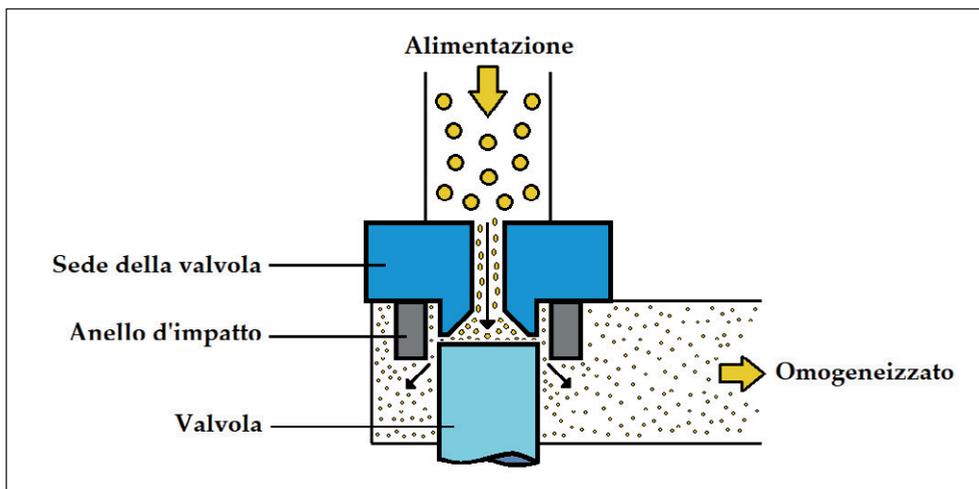


Fig. 1 - Schema di un omogeneizzatore.

L'Omogeneizzazione ad Alta Pressione è una tecnologia emergente che ha mostrato un grande potenziale per la lavorazione di alimenti liquidi in quanto, abbinando la temperatura alla elevata pressione, viene garantita una buona capacità di inattivazione microbica [Ferragut et al. 2009].

L'Operazione Unitaria di Pastorizzazione si basa su un processo di risanamento termico applicato ad alcuni alimenti, in questo caso il latte, allo scopo di minimizzare i rischi per la salute dovuti a microrganismi patogeni sensibili al calore, quali batteri in forma vegetativa, funghi e lieviti, con un'alterazione minima delle caratteristiche chimiche, fisiche ed organolettiche dell'alimento stesso [Tortora 2008]. Il processo di pastorizzazione avviene a temperature inferiori a 100°C ma tali da inattivare la fosfatasi alcalina e quindi superiori a 71,1°C per almeno 15 secondi. Il processo viene condotto in flusso continuo con l'ausilio di scambiatori a piastre o tubolari che consentono il riscaldamento ed il raffreddamento rapido del prodotto, consentendo di portare il latte crudo alle condizioni ottimali per la commercializzazione. In figura 2 è riportato lo schema di processo dell'Operazione Unitaria di Pastorizzazione.

Risultati sperimentali e considerazioni sulle prestazioni dell'Omogeneizzazione a pressioni ultra alta – UHPH

In un recente lavoro scientifico [Addo et al., 2015] si è esplorata l'applicazione della tecnologia UHPH paragonando le sue prestazioni all'operazione di pastorizzazione. In particolare, l'UHPH, alle condizioni sperimentali di diversa pressione operativa (100 MPa, 200 MPa e 300 MPa), è stata messa a confronto con l'Operazione Unitaria di Pastorizzazione, alle temperature di 70°C per 1 minuto e 85°C per 1 minuto. Sui prodotti trattati alle diverse condizioni sono state valutate tra l'altro le caratteristiche chimiche, in particolare il pH, il lisozima, e la shelf life. Alla condizione operativa di 100 MPa il campione trattato con UHPH ha mostrato un forte calo del pH al 7° giorno di conservazione, significativamente inferiore agli altri campioni trattati che, tuttavia, sono rimasti costanti per tutto il periodo di conservazione fino al 28° giorno. Un andamento simile si è verificato con il campione

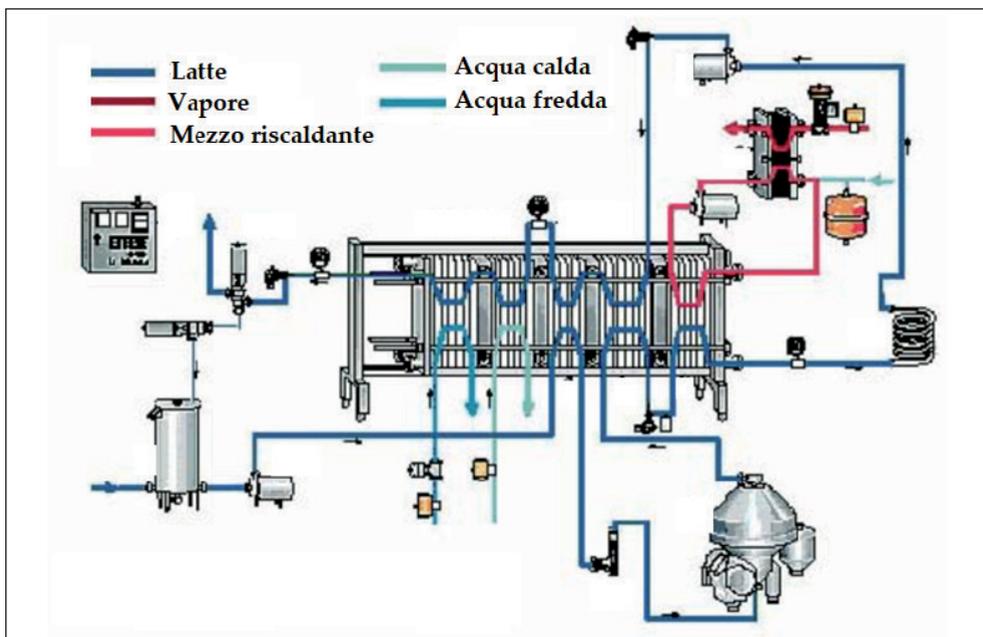


Fig. 2 - Schema di processo dell'Operazione Unitaria di Pastorizzazione. Riadattata. Fonte: AEE - Institut für Nachhaltige Technologien.

pastorizzato a 70°C. Alla condizione operativa di 300 MPa e 85°C il pH è rimasto stabile per tutti i 28 giorni di conservazione con valori intorno a 7,2. Il declino del pH nei campioni di latte sottoposti ai vari trattamenti lievi è stato attribuito al probabile processo di acidificazione provocato dalla crescita microbica. Anche l'attività del lisozima osservata nei campioni UHPH è risultata simile a quella ottenuta con l'Operazione di Pastorizzazione ed è stata mantenuta durante il tempo di conservazione. Alle pressioni operative di 200 MPa e 300MPa è stata notata una cospicua sedimentazione dovuta alla denaturazione proteica. La frazione proteica del latte di asina è particolarmente ricca in siero proteico, che rappresentano il 30-50% della frazione azotata mentre nel latte bovino è il 20% [Vincenzetti et al. 2011].

I risultati sperimentali hanno mostrato, dunque, che l'UHPH è una tecnologia che garantisce delle performance comparabili o migliori rispetto all'Operazione di Pastorizzazione in termini microbiologici, garantendo una shelf life di 28 giorni a 4°C.

In un recente lavoro [Charfi et al 2019] il latte di asina è stato sottoposto a trattamenti termici non convenzionali di 68°C per 2,5 minuti, 75°C per 10 minuti e a 100°C per 5 minuti, per valutare gli effetti sulle proprietà fisico-chimiche. Nello studio è stato evidenziato come il pH iniziale di 7,31 rimanesse invariato nei campioni che avevano subito i trattamenti a 68°C per 2,5 minuti e a 75°C per 10 minuti, ma diminuiva significativamente ($P < 0,05$) a pH 7,19 nei campioni trattati con un processo più intenso, 100°C per 5 minuti. Questa diminuzione è stata correlata alle reazioni di: ossidazione termica del lattosio in acidi organici principalmente acido formico (responsabili del 50% dell'abbassamento del pH); all'idrolisi del fosfato organico (responsabile per il 30% della diminuzione del pH); e alla precipitazione del fosfato tricalcico e rilascio concomitante di ioni idrogeno [Singh 2004].

Lo studio ha preso in considerazione anche l'attività del lisozima. Quest'ultima, inversamente proporzionale all'intensità del trattamento termico, manteneva una certa attività residua nei campioni trattati a 100°C per 5 minuti ma solo nei campioni trattati a 68°C per 2.5 minuti non veniva influenzata dal processo. Il trattamento termico a 68°C per 5 minuti si è quindi rivelato il migliore, garantendo requisiti di sicurezza sufficienti con limitati danni termici al prodotto [Charfi et al 2019].

I cambiamenti relativi a pH e lisozima, a seguito di trattamenti termici a diverse temperature, sono stati studiati anche da altri autori. In un recente lavoro [Ozturkoglu 2016] si è studiato l'effetto delle temperature di 65°C, 75°C 85°C su: pH, acidità, lisozima, lattoferrina e β -lattoglobulina e altri parametri fisico-chimici. Confrontando i campioni trattati termicamente con il latte fresco, è stato riscontrato come il valore iniziale del pH (7,54) decresceva in funzione dell'aumento della temperatura, mentre l'acidità, pari a 1,80°SH, aumentava con la temperatura sino a giungere al valore di 2,16°SH con il trattamento a 85°C. L'effetto sugli altri parametri fisico chimici non è stato, invece, evidente. Il lavoro ha evidenziato inoltre come la concentrazione di lisozima restava pressoché stabile nei campioni trattati a 65°C, mantenendo una concentrazione pari a 0,95 mg/mL. Questa concentrazione tuttavia diminuiva dell'8,25% e del 60% nei campioni che avevano subito un trattamento alle temperature rispettivamente di 75 e 85°C.

Un andamento più stabile è stato registrato per la concentrazione di β -lattoglobulina, che veniva mantenuta stabile a 3,24 mg/mL nei campioni trattati con temperature di 65°C e 75°C; alla temperatura di 85°C, tuttavia, questa concentrazione veniva ridotta drasticamente, raggiungendo valori di 0,39 mg/mL. Per le concentrazioni di Lattoferrina, invece, è stata evidenziata una riduzione pari al 50% del valore registrato nel latte crudo già a 65°C e una completa inattivazione alle temperature di 75 e 85°C.

OPERAZIONE UNITARIA DI SPRAY DRYING E LIOFILIZZAZIONE

L'**Operazione Unitaria di Spray Drying** è utilizzata per l'atomizzazione, vale a dire la trasformazione di sostanze liquide in polveri. È impiegata in svariati ambiti, dall'industria chimica a quella alimentare compreso il settore lattiero caseario. Un processo di atomizzazione consta di quattro fasi principali:

1. Atomizzazione della soluzione in gocce che avviene per mezzo di un atomizzatore rotante o mediante ugelli ad alta pressione.
2. Miscelazione delle gocce con l'aria calda (essiccazione) che entra, ad alta velocità, attraverso il dispersore.
3. Evaporazione istantanea, in quanto le gocce evaporano quando attraversano la camera di essiccazione.
4. Separazione delle particelle dal flusso d'aria per mezzo di un sistema pneumatico di trasporto e di raffreddamento.

In figura 3 è riportato lo schema di uno Spray Dryer utilizzato nel settore lattiero caseario.

Il latte viene alimentato nella camera di essiccazione attraverso una pompa e, attraverso un atomizzatore, viene scomposto in piccole goccioline in modo da aumentare la superficie soggetta al processo di evaporazione. Le particelle così ottenute avranno un diametro compreso tra i 20 e i 180 μm (dipendente dalla dimensione del foro dell'ugello e dalle caratteristiche dell'atomizzatore), portando all'ottenimento di prodotti finali con dimensioni notevolmente ridotte rispetto ai prodotti di partenza e con un'elevata stabilità dovuta alla quasi assenza di acqua libera e conseguente bassissima contaminazione batterica.

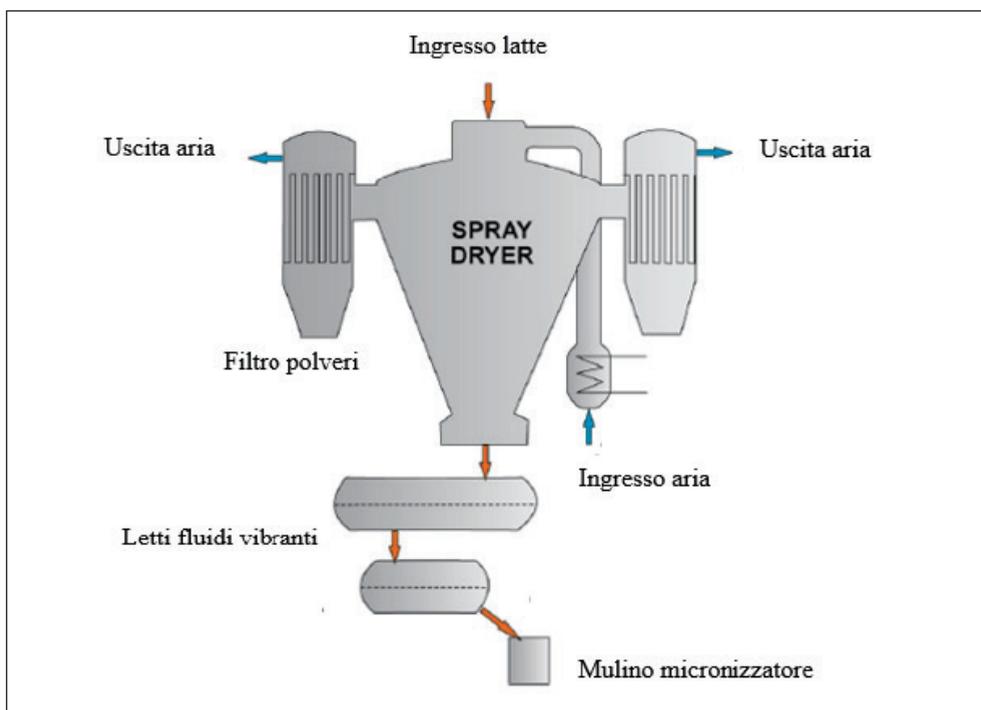


Fig. 3 - Schema di uno Spray Dryer industriale.

La temperatura dell'aria di essiccazione all'interno dell'apparato va da 150 a 200°C; l'umidità residua nelle polveri è funzione delle condizioni di processo (temperatura, portata di alimentazione) e delle caratteristiche dei soluti; comunemente l'umidità residua varia dal 5 al 10%.

L'impiego delle alte temperature comporta, inevitabilmente, delle perdite dal punto di vista nutrizionale soprattutto a carico di vitamine e proteine che vengono infatti denaturate [Vincenzetti 2011]. Tale perdita non è di poco conto vista l'importanza ricoperta da questi nutrienti a livello organico. Tra le proteine riveste un ruolo di rilevante importanza il lisozima per le proprietà antimicrobiche espresse in precedenza. Va da sé che mantenere più o meno inalterati i livelli di questo enzima sia auspicabile sia per i produttori che per i consumatori.

Con il termine **liofilizzazione**, nota anche come “crioessiccamento” o “freeze drying”, si intende il processo per mezzo del quale si verifica la disidratazione per sublimazione di prodotti surgelati in particolari condizioni di temperatura e pressione. I prodotti così ottenuti hanno generalmente un peso ridotto del 92%, un considerevole aumento della conservabilità e la tendenza a riacquisire caratteristiche simili al prodotto di partenza in seguito alla reidratazione. Infatti, il prodotto liofilizzato risulta effettivamente liofilo, cioè particolarmente predisposto alla solubilizzazione. A causa dei costi e dei tempi di lavorazione elevati, la liofilizzazione viene utilizzata soltanto per materie pregiate o per sostanze con principi attivi termolabili. Il processo di liofilizzazione è generalmente discontinuo e richiede tempi di processo piuttosto lunghi che vanno dalle 10 alle 20 ore. Nella figura 4 sono rappresentati i diversi passaggi utilizzati nel processo di liofilizzazione, dalla raccolta del latte all'ottenimento della polvere.

L'Operazione Unitaria di Liofilizzazione consta di due trasformazioni fisiche, ossia la surgelazione e la sublimazione. Essa prevede l'applicazione del calore all'alimento surgelato, in questo caso il latte di asina, mantenuto sottovuoto; l'acqua contenuta nel latte e segregata sotto forma di ghiaccio, viene estratta direttamente come vapore per sublimazione che viene poi catturato per congelamento per mezzo del condensatore. Una pompa da vuoto aspira i gas incondensabili che vengono così eliminati (figura 5).

Risultati sperimentali e considerazioni sulle prestazioni delle Operazione Unitarie di Spray Dryer e Liofilizzazione

I processi di spray drying e liofilizzazione influenzano le diverse componenti del latte d'asina. In un lavoro scientifico [Vincenzetti et al. 2018] è stata valutata la variazione della concentrazione di lisozima, β -lattoglobulina e α -lattoalbumina e dell'attività del lisozima nel latte di asina fresco (4°C) sottoposto ai trattamenti tecnologici di liofilizzazione e spray drying. Dai risultati ottenuti in questo studio si è riscontrato che entrambi i trattamenti tecnologici influenzano il contenuto di β -lattoglobulina e lisozima, ma non hanno effetti sulla α -lattoalbumina.

In particolare, il **processo di liofilizzazione** causa una modesta riduzione dell'attività enzimatica del lisozima (0,53 U mL⁻¹ sul latte fresco e 0,51 U mL⁻¹ sul latte liofilizzato) e della



Fig. 4 - Passaggi principali utilizzati nel processo di liofilizzazione.

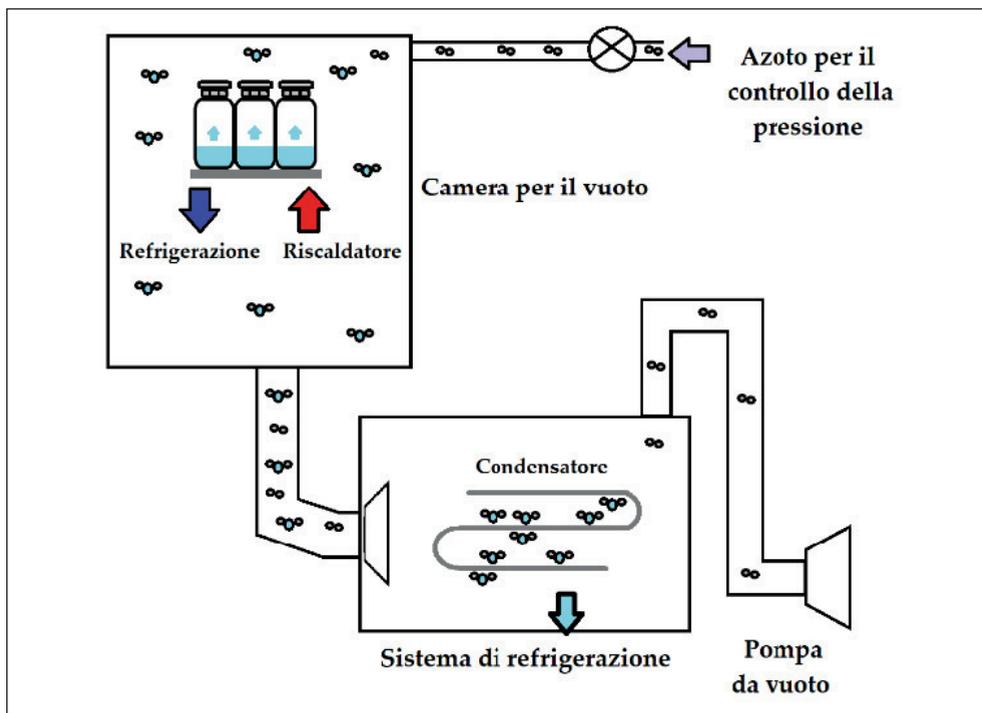


Fig. 5 - Schema di funzionamento di un Liofilizzatore.

quantità totale di β -lattoglobulina (6,43 mg/mL nel latte fresco rispetto a 5,92 mg/mL nel latte liofilizzato). Il **processo di spray drying** causa una significativa riduzione dell'attività enzimatica del lisozima ($0,53 \text{ U mL}^{-1}$ sul latte fresco e $0,31 \text{ U mL}^{-1}$ sul latte essiccato) e della quantità totale di β -lattoglobulina (6,43 mg/mL nel latte fresco rispetto a 5,51 mg/mL nel latte essiccato) a causa dell'alta temperatura a cui viene sottoposto il latte durante questo trattamento.

Gli studi di stabilità termica condotti con la microcalorimetria a scansione differenziale (mDSC) e dynamic light scattering (DLS) hanno rivelato, inoltre, che sia i processi di liofilizzazione che di spray drying non influenzano il comportamento termico delle proteine del siero di latte. La componente volatile, tuttavia, viene influenzata da entrambi i processi. L'analisi SPME/GC-MS (micro estrazione in fase solida e gascromatografia accoppiata alla spettrometria di massa) ha evidenziato come il processo di liofilizzazione causa un aumento significativo di 2-eptanone, nonanal e limonene, mentre il trattamento di spray drying ha determinato un aumento molto significativo di altri chetoni, aldeidi e idrocarburi aromatici che non erano invece presenti nel latte di asina fresco e liofilizzato.

In un recente studio di Polidori e collaboratori [2019], inoltre, sono state confrontate le proprietà chimiche e nutrizionali del latte d'asina crudo e del latte d'asina liofilizzato in polvere e ricostituito. La sperimentazione è stata effettuata con campioni freschi di latte proveniente da 18 asine pluripare di razza Ragusana. Il processo di liofilizzazione è stato eseguito impiegando latte refrigerato (4°C) e usando un liofilizzatore a piatti. Il latte ricostituito è stato preparato sciogliendo 0,9 g di latte d'asina liofilizzato disciolto in 10 ml di acqua distillata. Lo studio ha permesso la valutazione dei macroelementi minerali, componenti importanti del latte, che contribuiscono alla sintesi di enzimi, vitamine e ormoni;

senza di essi l'assimilazione dei nutrienti con l'alimentazione è impossibile [Fantuz et al. 2012]. Il latte di asina fresco è caratterizzato da un'alta concentrazione di Ca e P [Salimei 2012]. Nello studio sono stati registrati valori di Ca e P pari a 714.2 e 481.5 mg kg⁻¹ rispettivamente; altri elementi come K, Cl, Na e Mg hanno valori di minore importanza. Il confronto con i campioni liofilizzati ha evidenziato come il processo di liofilizzazione non conduce alla variazione di questi nutrienti.

La stessa situazione è stata evidenziata nell'indagine degli acidi grassi in quanto non si è riscontrata alcuna differenza significativa tra le due tipologie di latte. Il profilo degli acidi grassi ha rivelato inoltre che sia nel latte fresco che in quello liofilizzato si ha la presenza di grandi quantità di acidi grassi polinsaturi, compresi acidi grassi essenziali (n-6 e n-3) che contrastano lo stress ossidativo, diminuendo la risposta infiammatoria in caso di allergia [Chiofalo B et al 2011]. Inoltre, la scarsa presenza di acidi grassi a catena corta rendono entrambi i prodotti adatti (migliore tolleranza) per la dieta infantile [Salimei et al 2001].

In entrambe le tipologie di latte, infine, sono stati registrati contenuti di MUFA e PUFA interessanti, con un rapporto UFA/SFA rispettivamente di 0,89 nel latte fresco e 0,90 in quello liofilizzato. Gli acidi grassi più abbondanti sono: tra gli acidi grassi saturi, l'acido palmitico (21,1% nel fresco e 19,3% nel liofilizzato); tra gli acidi grassi monoinsaturi, l'acido oleico (26,8% nel fresco e 28,3% nel liofilizzato); e tra gli acidi grassi polinsaturi, l'acido linoleico (9% nel fresco e 8,2% nel liofilizzato). Tra i PUFA si riscontrano anche piccole quantità di acido eicosapentaenoico (EPA, C20: 5 n-3) e di acido docosaesaenoico (DHA, C22: 6 n-3) ed esattamente 0,29% EPA, 0,31 DHA sul latte d'asina fresco e 0,28% EPA, 0,30% DHA latte d'asina liofilizzato.

TRATTAMENTI TERMICI E QUALITÀ MICROBIOLOGICA DEL LATTE D'ASINA

Nel corso degli anni diversi studi hanno permesso di ampliare le conoscenze sulle componenti nutritive del latte d'asina e sul loro cambiamento a seconda dei trattamenti termici impiegati. Un numero limitato di studi, invece, è stato indirizzato verso la qualità microbiologica del latte e l'importanza dei trattamenti termici su questo aspetto importante per la salute del consumatore. Le informazioni disponibili in letteratura scientifica, seppur minime, evidenziano una contaminazione microbica generalmente bassa < 6 log UCF mL⁻¹ [Aspri et al. 2016]. Questo fenomeno, legato alle caratteristiche anatomiche della mammella, alla minore propensione al coricamento dell'animale (limitato contatto con le deiezioni) e alla presenza di peptidi bioattivi ad azione antimicrobica (lisozima, lattoferrina e lattoperossidasi), porta a considerare questo prodotto più sicuro rispetto al latte bovino [Chiarelli 2007; Colavita et al. 2011; Vincenzetti et al. 2008].

I microrganismi patogeni riscontrati nel latte d'asina sono *Bacillus cereus*, *Campylobacter coli*, *Cronobacter sakazakii*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Escherichia hermannii*, *Listeria* spp., *Pantoea agglomerans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. [Conte et al., 2019]. Il latte d'asina, inoltre, potrebbe presentare contaminazioni secondarie da *Brucella* spp., *Burkholderia mallei*, *Mycobacterium tuberculosis complex*, *Salmonella* spp. e *Yersinia enterocolitica*. La presenza di quest'ultime, tuttavia, è strettamente legata allo stato degli allevamenti e ai processi di mungitura e manipolazione ed è riscontrata maggiormente nel latte vaccino [Colavita et al., 2011].

Ad ogni modo, il processo di pastorizzazione, che precede tutti i trattamenti termici presi in considerazione in questo capitolo, è idoneo ad assicurare la distruzione di tutti questi microrganismi patogeni, rendendo il latte d'asina sicuro per il consumo umano [Holsinger et al., 1997]. In un recente lavoro [Charfi et al. 2019], inoltre, è stato valutato come l'applicazione dei trattamenti termici non convenzionali di 68°C per 2.5 minuti, 75°C per 10 minuti e 100°C per 5 minuti, influenzava le proprietà microbiologiche del latte d'asina.

La carica microbica totale iniziale di $2,57 \times 10^4$ UFCmL⁻¹ è stata ridotta di circa un ordine di grandezza nei campioni di latte trattati a 68°C per 2,5 minuti ($3,21 \times 10^3$ UFCmL⁻¹) e di circa due ordini di grandezza in campioni di latte trattati a 75°C per 10 minuti ($2,65 \times 10^2$ UFCmL⁻¹). Il miglior trattamento in termini di sicurezza è stato quello a 100°C per 5 minuti (tutti i gruppi microbici studiati con carica <10 UFC mL⁻¹); tuttavia, anche gli altri trattamenti hanno permesso l'eliminazione dei coliformi fecali già a 68°C per 2,5 minuti; le enterobatteriacee e i coliformi totali riscontrati inizialmente sono stati ridotti a valori inferiori di 10 UFC mL⁻¹.

Tuttavia, nel latte trattato con moderato abuso termico o pastorizzato è possibile riscontrare la presenza residua di spore non germinate del batterio Gram negativo *Bacillus cereus*, che porta nuovamente alla proliferazione di questo batterio e alla produzione di diversi tipi di tossine responsabili di intossicazioni alimentari a decorso clinico variabile [Chaves-López et al., 2009; Stenfors Arnesen et al., 2008]. Nonostante le spore di *B. cereus* abbiano una resistenza al calore relativamente bassa, infatti, hanno la capacità di sopravvivere a un moderato abuso termico e al processo di pastorizzazione [Christiansson 2011]. Per poter garantire la completa sicurezza del prodotto al consumatore è dunque necessaria l'inattivazione delle spore mediante trattamenti termici più spinti per garantire una loro completa scomparsa nel prodotto.

Tra i trattamenti termici descritti in precedenza, il processo di congelamento comporta un blocco della attivazione delle spore; quest'ultime infatti, secondo quanto riportato dalla Food and Drug Administration [FDA, 2013], rimangono inattive ad una temperatura <5°C.

Per quanto riguarda il processo di spray drying, invece, in letteratura è presente solo un numero limitato di studi che valuta la sopravvivenza delle spore di *B. cereus*. Un recente studio [Alvarenga et al., 2018] riporta un'alta variabilità di inattivazione delle spore durante il processo a seconda del ceppo considerato. La qualità microbiologica del latte trattato mediante processo di omogeneizzazione ad alta pressione varia a seconda delle condizioni applicate [Addo et al., 2015]; l'applicazione di 300 MPa migliora significativamente la qualità microbiologica del prodotto. Inoltre, cicli ripetuti a 150 MPa in combinazione con altri stress sub-letali (pH e termico) possano inattivare significativamente le spore di *B. cereus*; l'UHPH quindi è uno strumento utile e innovativo per il controllo di questo agente patogeno [Chaves-Lopez et al., 2009].

L'unico processo idoneo per la commercializzazione di latte d'asina, soprattutto su larga scala, è la liofilizzazione [Sorrentino et al., 2006] in quanto assicura una buona shelf life e una buona qualità microbiologica del prodotto, preservandone peraltro le principali componenti nutrizionali. Ad oggi, anche se gli strumenti normativi europei e nazionali in vigore consentono di avere dei prodotti con un livello di sicurezza accettabile, il mercato globale richiede uno sforzo maggiore nell'ottimizzazione dei processi termici che garantiscano una sicurezza e stabilità microbiologica. Il latte d'asina, infatti, è particolarmente indicato per fasce di consumatori più a rischio, quali bambini e anziani, la cui tutela richiede un innalzamento dei requisiti igienico-sanitari.

CONCLUSIONI

Il presente trattato ha permesso di investigare sulle principali tecniche di trattamento termico del latte d'asina e di mettere in risalto come esse impattano sulle principali e peculiari caratteristiche qualitative e sulla salubrità in termini microbiologici. Dalla discussione si è evidenziato come il processo di liofilizzazione sia una valida tecnologia per la conservazione e la stabilizzazione del prodotto. La liofilizzazione, seppur produca una variazione di alcuni nutrienti, garantisce un buon apporto nutrizionale, preserva l'attività del lisozima e permette un'elevata sicurezza microbiologica.

La polvere di latte può essere conservata in ambienti freschi ed asciutti e quindi facilmente trasportabile senza l'aggravio dei costi di refrigerazione. Inoltre, il prodotto liofilizzato mostra una buona capacità di reidratazione in quanto il trattamento non influenza la solubilità delle proteine sieriche. Pertanto, l'Operazione Unitaria di liofilizzazione garantisce per tutto l'anno la presenza sul mercato del latte d'asina, prodotto ad oggi considerato un "pharmafood".

BIBLIOGRAFIA

- Addo CNA, Ferragut V (2015) Evaluating the Ultra-High Pressure Homogenization (UHPH) and Pasteurization effects on the quality and shelf life of donkey milk. *Int J Food Studies* 4(1): 104-115.
- Alberghini L, Catellani P, Norbiato MA, Giaccone V (2012) Indagine preliminare sulle caratteristiche microbiologiche del latte d'asina. *Italian Journal of Food Safety* 1(3): 7-10.
- Alvarenga VO, Campagnollo FB, Pia AKR, Conceição DA, Abud Y, Sant'Anna C, Hubinger MD Sant'Ana AS (2018) Quantifying the Responses of Three *Bacillus cereus* Strains in Isothermal Conditions and During Spray Drying of Different Carrier Agents. *Front Microbiol* 9:1113.
- Aspri M, Economou N, Papademas P (2016) Donkey milk: An Overview on Functionality, Technology and Future Prospects. *Food Reviews International* 33(3): 316-333.
- Charfi I, Tidona F, Makhlof A, Rezouga F, Boukharian H, Bornaz S (2019) Biochemical and quality changes occurring in donkey milk subjected to non-standard heat treatments. *Integr Food Nutr Metab*, Volume 6: 4-5.
- Chaves-López C, Lanciotti R, Serio A, Paparella A, Guerzoni E, Suzzi G (2009) Effect of high pressure homogenization applied alone or in combination with other mild physical or chemical stresses on *Bacillus cereus* and *Bacillus subtilis* spore viability. *Food Control* 20: 691-695.
- Chiarelli F, Di Michele S (2007) Allergia alle proteine del latte vaccino: ruolo del latte d'asina. II° Convegno Nazionale sul latte di asina. Latte d'asina: perché. Area Ambiente e Consumi Coldiretti, Roma, pp. 76-79.
- Chiofalo B, Dugo P, Bonaccorsi IL, Mondello L (2011) Comparison of major lipid components in human and donkey milk: new perspectives for a hypoallergenic diet in humans. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 33(4): 633-644.
- Colavita G, Amadoro C, Maglieri C, Sorrentino E, Varisco G, Salimei E. (2010) Hygiene and health parameters of donkey's milk. EAAP, 61st Annual Meeting of the European Association of Animal Production, Heraklion, Crete.
- Colavita G, Amadoro C, Salimei E (2011). Latte di asina: aspetti igienico-sanitari e normativi. *Argomenti S.I.V.E.M.P.* 3: 61-70.
- Conte F (2011) Latte di asina: produzione, caratteristiche e gestione dell'azienda asinina Fondazione Iniziative Zooprofilattiche e Zootecniche - Brescia, marzo 2011. Qualità e salubrità del latte d'asina: un decennio di esperienze di ricerca, pp. 161-174.
- Conte F (2014) "La filiera lattiero-casearia" in *Igiene Degli Alimenti. Aspetti Igienico-Sanitari*, pp. 89-139, A cura di Maria Schirone e Pierina Visciano, Edizioni Agricole di New Business Media, Bologna - Italia.
- Conte F, Panebianco A (2019) Potential Hazards Associated with Raw Donkey Milk Consumption: A Review *International Journal of Food Science*, Article ID 5782974, 11 pages.
- Christiansson A (2011) Pathogens in milk | *Bacillus cereus*. *Encyclopedia of Dairy Sciences* (Second Edition), Academic press, Mississippi, pp. 24-30.

- Fantuz F, Ferraro S, Todini L, Piloni R, Mariani P, Salimei E (2012) Donkey milk concentration of calcium, phosphorus, potassium, sodium and magnesium. *Int Dairy J* 24(2):143-145.
- Ferragut V, Cruz N S, Trujillo A, Guamis B, & Capellas M (2009). Physical characteristics during storage of soy yogurt made from ultra-high pressure homogenized soymilk. *Journal of Food Engineering*, 92 (1), 63-69.
- Food and Drug Administration (FDA) 2013a Food Code 2013. US Public Health Service. Disponible online: <http://www.fda.gov/downloads/Food/GuidanceRegulation/RetailFoodProtection/FoodCode/UCM374510.pdf>. Ultimo accesso: 1 marzo 2020.
- Gabitesa JR, Abrahamsona J, Winchesterb JA (2010) Chemical engineering research and design 8:899-910.
- Giacometti F, Bardasi L, Merialdi G, Morbarigazzi M, Federici S, *et al.* (2016) Shelf life of donkey milk subjected to different treatment and storage conditions. *J Dairy Sci* 99(6): 4291-4299.
- Giribaldi M, Antoniazzi S, Gariglio GM, Coscia A, Bertino E, *et al.* (2017) A preliminary assessment of HTST processing on donkey milk. *Vet Sci* 4(4): 50.
- Middelberg, A P J 1995. Process-scale disruption of microorganisms. *Biotechnol. Adv.* 13:491-551.
- Mottola A, Alberghini L, Giaccone V, Marchetti P, Tantillo G, Di Pinto A (2018) Microbiological safety and quality of Italian donkey milk. *Journal of Food Safety* 38(3): e12444.
- Ozturkoglu-Budak S (2016) Effect of different treatments on the stability of lysozyme, lactoferrin and β -lactoglobulin in donkey's milk. *Int J Dairy Technol* 71(1): 36-45.
- Polidori P, Vincenzetti S (2010) Differences of protein fractions among fresh, frozen and powdered donkey's milk. *Recent Patents Food Nutr Agric* 2(1): 56-60.
- Polidori P, Vincenzetti S (2013) Effects of thermal treatments on donkey milk nutritional characteristics. *Recent Patents Food Nutr Agric* 5(3): 182-187.
- Polidori P, *et al.* Comparison of Nutritional Characteristics of Fresh and Freeze-Dried Donkey Milk. *Food Sci Nutr Technol* 2019, 4(1): 000172.
- Perna A, Intaglietta I, Simonetti A, and Gambacorta E (2015), "Donkey milk for manufacture of novel functional fermented beverages," *Journal of Food Science*, vol. 80, no. 6, pp. S1352-S1359.
- Salimei E, Fantuz F, Coppola R, Chiofalo B, Polidori P, *et al.* (2004) Composition and characteristics of ass's milk. *Anim Res* 53(1): 67-78.
- Salimei E, Fantuz F (2012) Equid milk for human consumption. *Int Dairy J* 24(2): 130-142.
- Singh H (2004) Heat stability of milk. *Int J Dairy Technol* 57: 111-118.
- Stenfors Arnesen LP, Fagerlund A, Granum PE (2008) From soil to gut: *Bacillus cereus* and its food poisoning toxins. *FEMS Microbiol Rev* 32(4): 579-606.
- Sorrentino E, Salimei E, Succi M, Gammariello D, Di Criscio T, Panfili G, Coppola R (2006) "Heat treatment of ass's milk, a hypoallergenic food for infancy" in *Technological Innovation and Enhancement of Marginal Products*, pp. 569-574.
- Tortora J 2008 B.R. Funke, C.L. Case, *Elementi di microbiologia*, Pearson Education Italia, 2008, p. 179.
- Vincenzetti S, Polidori P, Mariani P, Cam-mertoni N, Fantuz F, *et al.* (2008) Donkey's milk protein fractions characterization. *Food Chem* 106: 640-649.
- Vincenzetti S, Savini M, Cecchini C, Micozzi D, Carpi F, Vita A, Polidori P, (2011) Effects of Lyophilization and Use of Probiotics on Donkey's Milk Nutritional Characteristics. *International Journal of Food Engineering* 7(5):1556-3758.
- U.S. Food and Drug Administration. The Dangers of Raw Milk: Unpasteurized Milk Can Pose a Serious Health Risk. Disponibile online: <https://www.fda.gov/food/resourcesforyou/consumers/ucm079516.htm> (accessed on 3 September 2017).

sezione 3

*DIFFERENTI UTILIZZI
DEL LATTE DI ASINA*



APPLICAZIONI COSMETICHE E COSMECEUTICHE DEL LATTE D'ASINA

FRANCESCA FROIO, MARIA CHIARA CRISTIANO, DONATELLA PAOLINO

Dipartimento di Medicina Sperimentale e Clinica, Università Magna Graecia di Catanzaro

1. INTRODUZIONE

Il termine “cosmeceutico” è stato introdotto per la prima volta nel 1962 da Raymond Reed per indicare prodotti ad applicazione topica che hanno effetti sia cosmetici che farmaceutici sulla pelle (Faria-Silva et al., 2019).

Il latte d'asina, prodotto dalla femmina di *Equus asinus*, presenta una composizione molto simile a quella del latte umano, in particolare per quanto riguarda il contenuto di proteine. È infatti caratterizzato da un basso contenuto di proteine e grassi ed è invece ricco di lattosio (Massouras et al., 2017). Viene utilizzato per l'alimentazione di bambini allergici al latte di vacca (Cunsolo et al., 2011) poiché contiene un basso contenuto di caseine annoverate tra le principali responsabili delle reazioni allergiche al latte negli infanti. Infine, il suo alto contenuto di proteine del siero, rende il latte d'asina altamente digeribile (Aspri et al., 2016). È un latte ricco di vitamine (A, molte del gruppo B, C, D) e di minerali: calcio, fosforo e magnesio, sono presenti in quantità superiori rispetto a quelle presenti nel latte umano mentre sodio, potassio e zinco sono presenti in quantità simili; lo zinco, in particolare, è un minerale essenziale per la crescita e lo sviluppo dell'individuo.

Negli ultimi anni si è verificato un aumento nella richiesta da parte dei consumatori (Calka and Pawlica, 2019; Bath et al, 2020), di prodotti cosmetici naturali visti come “safe” per l'uomo e per l'ambiente. In questo scenario, prodotti cosmetici basati su ingredienti alimentari come il latte d'asina, si prestano bene a soddisfare le richieste dei consumatori.

In questo capitolo verranno trattati i principali effetti benefici del latte d'asina sulla cute, dal punto di vista cosmetico, ovvero quegli effetti positivi a livello visivo, e cosmeceutico, riguardanti cioè gli effetti terapeutici di alcuni componenti del latte d'asina riportati in letteratura scientifica.

2. EFFETTI BENEFICI SULLA CUTE

Le proprietà benefiche del latte d'asina sulla pelle sono noti da secoli e sono riconducibili ai suoi costituenti e i benefici dell'utilizzo del latte sono noti da secoli. Infatti, Cleopatra e Poppea facevano il bagno nel latte d'asina per preservare la giovinezza e la lucentezza della loro pelle (Cunsolo et al., 2011). In realtà, nonostante sia conoscenza comune il beneficio dell'utilizzo del latte d'asina per applicazione topica, gli studi scientifici che esaminano i meccanismi con i quali il latte d'asina migliora lo stato di benessere della cute sono davvero pochi.

I più comuni benefici annoverati, quali la riduzione delle rughe, l'induzione della formazione di nuovo collagene, il ripristino delle naturali difese della cute, la prevenzione dei processi infiammatori nel caso di dermatiti e l'aumento dell'elasticità, sono attribuiti ai vari componenti contenuti in esso: proteine, sali minerali, vitamine, acidi grassi essenziali e lisozima. Inoltre altro componente fondamentale è la vitamina C, presente in quantità simili a quelle

misurate nel latte umano, che si è dimostrata attiva nel proteggere i neonati dallo sviluppo di dermatite atopica (Altomonte et al., 2019).

Le proteine sono efficaci nel trattenere acqua a livello dello strato corneo determinando così un aumento dello stato di idratazione della pelle (Secchi, 2008). Gli acidi grassi, tra cui acido oleico e linoleico, sono elementi che valorizzano i prodotti cosmetici poiché aiutano la pelle ad assorbire gli attivi (Brunt and Burgess, 2018). Il latte d'asina contiene anche un elevato contenuto di lisozima (Bidasolo et al., 2012) il quale esercita effetti antimicrobici e antinfiammatori sulla cute.

2.1. Proprietà anti-ageing

L'invecchiamento cutaneo è causato da fattori fisiologici (interni) e da fattori ambientali (esterni), che promuovono alterazioni fisicochimiche a carico delle strutture della cute, portando alla progressiva perdita della sua integrità strutturale e delle funzionalità fisiologiche (Tobin, 2017). Queste alterazioni "interne" della cute, si riflettono all'esterno nella forma di rughe, discromie ed elastosi, e, di conseguenza, dai prodotti cosmetici che vantano un'attività anti-ageing ci si aspettano effetti specifici quali idratazione visibile della pelle, maggiore elasticità e riduzione sia delle rughe sottili che di quelle più profonde. Il latte d'asina possiede proprietà idratanti a livello cutaneo grazie al suo alto contenuto di proteine del latte, quali caseina, α -lattoalbumina e β -lattoglobulina, capaci di interagire con le strutture della cute e di promuovere la ritenzione dell'acqua, con conseguente idratazione profonda e prevenzione della degenerazione cellulare dell'epidermide (Simos et al., 2011). In particolare, α -lattoalbumina e β -lattoglobulina, abbondantemente presenti nel latte d'asina (3.75 g/L e 1.8 g/L per la β -lattoglobulina e per l' α -lattoalbumina, rispettivamente) sono state già descritte come ingredienti fondamentali nei cosmetici per la loro capacità di idratare e di mascherare temporaneamente le rughe (Cotte, 1991).

In realtà, nei cosmetici contenenti latte d'asina, le proprietà anti-invecchiamento non sono da ricondurre esclusivamente ai componenti del latte ma sono dovute spesso all'associazione di quest'ultimo con altre sostanze di origine naturale che vantano le medesime caratteristiche. In un recente lavoro per esempio, Baltazar e collaboratori hanno preparato delle emulsioni olio in acqua (O/A) a base di latte d'asina, estratto di melograno e filtri solari. L'emulsione così ottenuta è stata testata su 32 donne di età compresa tra i 45 e 65 alle quali l'emulsione è stata applicata per 28 giorni. Al termine del tempo stabilito sono state fatte le opportune valutazioni cutanee utilizzando idonei strumenti. I risultati ottenuti dalle indagini strumentali effettuate hanno dimostrato una riduzione del 32.9% delle rughe e un aumento dell'idratazione cutanea pari all'11.4%; anche per l'elasticità cutanea è risultato un aumento del 16.1%. Infine, anche l'omogeneità della pelle dei soggetti trattati è risultata maggiore dimostrando così un buon effetto anti-ageing della formulazione oggetto di indagine (Baltazar et al., 2017). Un altro interessante lavoro è stato quello condotto da Mazzulla e collaboratori che hanno formulato un'altra emulsione O/A a base di siero di latte d'asina e filtrato di bava di lumaca allo scopo di studiarne le proprietà anti-ageing. La formulazione è stata testata su un totale di dodici soggetti con evidenti segni di invecchiamento cutaneo a livello periorbitale e della fronte, i quali hanno applicato due grammi di emulsione quotidianamente per un periodo di 40 giorni. La raccolta dei risultati è stata effettuata dopo un breve periodo di 2 ore e alla fine del trattamento, ed è stato dimostrato come l'applicazione di questo prodotto a base di latte d'asina sia stato in grado di dare dei risultati tangibili in termini di idratazione, elasticità e riduzione delle rughe già dopo poco tempo dall'applicazione (Mazzulla et al., 2018).

2.2. Proprietà anti-batteriche e anti-fungine

Le infezioni fungine a livello cutaneo sono causate da dermatofiti, lieviti e muffe; i dermatofiti sono funghi che si nutrono di cheratina infettando cute, unghie e capelli determinando così l'insorgenza di dermatofitosi. Rappresentano la causa principale di infezioni cutanee e sono classificati in tre specie: *Trichophyton species*, *Epidermophyton species*, *Microsporum*. *Trichophyton rubrum* è il maggior responsabile di infezioni cutanee (Rai et al., 2017). Le infezioni batteriche invece sono causate principalmente da *Staphylococcus aureus* *Streptococcus pyogenes*: il primo è responsabile principalmente di infezioni quali impetigine e follicolite mentre il secondo causa fascite necrotizzante (Sukumaran, 2016). Principalmente, le proprietà antimicrobiche del latte d'asina sono dovute al suo elevato contenuto di lisozima (peptidoglicano N-acetilmuramoilidrolasi). Hoq and Ibrahim hanno indagato i potenziali effetti antimicrobici dell'associazione lisozima-triclorosano sui principali batteri che colonizzano la cute; la principale attività antimicrobica del complesso così ottenuto è stata registrata contro *Propionibacterium acnes* e *Corynebacterium minutissimum* (Hoq and Ibrahim, 2011). Inoltre, sembra che l'attività sinergica del lisozima con la lattoferrina contribuisce a fortificare l'azione antimicrobica del latte d'asina sia contro i batteri Gram-positivi che contro i Gram-negativi (Šarić et al., 2014). Diversi studi scientifici hanno dimostrato che la lattoferrina può legare diversi componenti delle membrane batteriche, aprendo così dei "pori" e permettendo al lisozima di interrompere i collegamenti glicosidici all'interno dei peptidoglicani (Ellison and Giehl, 1991). Questa aumentata permeabilità della membrana batterica si verifica principalmente a carico dei Gram-negativi.

Oltre al lisozima, le proprietà antimicrobiche del latte d'asina sembrano riconducibili anche agli acidi grassi di cui è ricco. Analisi gascromatografiche hanno dimostrato che il latte d'asina è contiene in particolare acido oleico (25.4%), acido palmitico (23.75%), acido linolenico (20.04%), acido arachidico (3.58%) e stearico (3.26%), che hanno appunto un'attività antimicrobica, descritta in un lavoro scientifico da Koutb e collaboratori. Infatti, è stato dimostrato come gli acidi grassi presenti nel latte possiedono attività antimicrobica nei confronti dello *Staphylococcus aureus* un batterio colonizzatore di cute e mucose. Nello stesso lavoro è stata dimostrata anche l'efficacia del latte d'asina nei confronti di funghi dermatomicotici quali *Trichophyton mentagrophytes* e *Trichophyton rubrum* responsabili della *Tinea corporis* una dermatofitosi cutanea che si manifesta con la comparsa di macchie rossastre a livello del viso e degli arti (Koutb et al., 2016).

2.3. Proprietà anti-infiammatorie

Le patologie cutanee che comportano uno stato infiammatorio della cute stessa sono numerose; le più diffuse sono rappresentate dalla psoriasi, dermatite atopica (Devos et al., 2019) e acne (Tanghetti, 2013). È stata ipotizzata una correlazione tra l'infiammazione cutanea e la compromissione della sua normale funzione di barriera (Hvid et al., 2011).

Anche per quanto riguarda il potenziale effetto benefico del latte d'asina, in termini di attività anti-infiammatoria, esso non è riconducibile al latte in generale ma ai suoi singoli componenti e in particolare al lisozima. Benchè sia noto per le sue proprietà antibatteriche, recentemente è stato scoperto possedere anche proprietà anti-infiammatorie a livello cutaneo (Niyonsaba and Ogawa, 2005). Ganz e collaboratori in un lavoro sperimentale hanno dimostrato che in topi in cui era stata generata una carenza di lisozima la risposta infiammatoria indotta tramite incisione cutanea, era più lunga e intensa rispetto ai topi wild-tipe utilizzati come controllo (Ganz et al., 2003). Altri componenti con proprietà anti-infiammatoria presenti nel latte d'asina sono gli eicosanoidi, acidi grassi derivati dall'acido arachidonico (Chiofalo et al., 2003).

3. LATTE D'ASINA NEL MERCATO

Le numerose e crescenti richieste dei consumatori di prodotti naturali per l'igiene e la cura della persona, hanno spinto l'industria cosmetica alla ricerca di materie prime naturali idonee a soddisfare tali esigenze. In questo scenario, prodotti cosmetici naturali a base di ingredienti alimentari, quali il latte d'asina, risultano essere una associazione perfetta a soddisfare le richieste dei consumatori.

Ad oggi, i pochi dati presenti sul mercato relativi ai cosmetici a base di latte d'asina, riguardano principalmente l'effetto idratante e ricostituente sulle cellule della pelle. Secondo un'indagine di mercato effettuata da Cosentino e collaboratori nel 2013, circa il 66% dei soggetti intervistati era sì è dichiarato favorevole all'acquisto di cosmetici innovativi, inclusi prodotti a base di latte d'asina (Cosentino et al., 2013). Negli ultimi 20 anni l'allevamento di asini in Europa ha subito una riduzione di circa il 50%. Si è registrato un aumento invece nel consumo alimentare di latte d'asina e nel suo utilizzo per la preparazione di prodotti cosmetici. Questo ha suscitato un aumento dell'interesse economico nei confronti di questo animale. Il latte d'asina viene attualmente utilizzato per la produzione di creme e saponi. Ad oggi, non sono disponibili dati attendibili sulla produzione del latte d'asina in Italia e in Europa (Camillo et al., 2018).

4. CONCLUSIONI

Negli ultimi anni, si è verificato un notevole aumento da parte dei consumatori nelle richieste di prodotti cosmetici a base di ingredienti naturali. Il latte d'asina, grazie alle numerose proprietà benefiche dei suoi componenti sulla cute, ben si presta ad essere utilizzato come ingrediente di base per la preparazione di forme cosmetiche e cosmeceutiche. Infatti, come abbiamo discusso in questo capitolo, i componenti del latte d'asina non solo migliorano lo stato della cute dal punto di vista puramente estetico migliorandone ad esempio elasticità e idratazione, ma possiedono anche delle buone proprietà terapeutiche.

Studi scientifici più approfonditi sul meccanismo d'azione dei componenti del latte d'asina sulla cute sono necessari per la progettazione e l'allestimento di prodotti topici naturali con potenziali effetti estetici e terapeutici sulla cute. Tutto ciò comporterebbe non solo l'introduzione di nuovi prodotti sul mercato ma anche una rivalutazione degli allevamenti di asini con i possibili conseguenti benefici economici.

BIBLIOGRAFIA

- Altomonte, I., Salari, F., Licitra, R., Martini, M. (2019). Donkey and human milk: Insights into their compositional similarities. *Int. Dairy J.*, 89, 111-118.
- Aspri, M., Economou, N., Papademas, P. (2017). Donkey milk: An overview on functionality, technology, and future prospects. *Food Rev. Int.*, 33(3), 316-333.
- Baltazar, D., Marto, J., Berger, T., Pinto, P., Ribeiro, H.M. (2017). The antiageing efficacy of donkey milk in combination with pomegranate extract and UV protection: A traditional ingredient in a modern formulation. Monographic Special Issue: *Cosmetic Active Ingredients - H&PC Today - Household and Personal Care Today*, 12(2), 30-32.
- Bhat, B.A., Ashraf, S.S., Shaheen, F. (2020). A Study on Awareness and Attitude of Female College Going Students towards Use of Herbal Cosmetic Products in Central Kashmir, Kashmir. *Galore International Journal of Applied Sciences and Humanities*, 4(1), 5-17.

- Bidasolo, I.B., Ramos, M., Gomez-Ruiz, J.A. (2012). In vitro simulated gastrointestinal digestion of donkeys' milk. Peptide characterization by high performance liquid chromatography – tandem mass spectrometry. *Int. Dairy J.*, 24(2), 146-152.
- Brunt, E. G., Burgess, J.G. (2018). The promise of marine molecules as cosmetic active ingredients. *Int. J. Cosmet. Sci.*, 40(1), 1-15.
- Cařka, M., Pawlica, P. J. (2019). Substances of natural origin used in the sun protection of the skin. *EJMT*, 3, 24.
- Camillo, F., Rota, A., Biagini, L., Tesi, M., Fanelli, D., Panzani, D. (2018). The current situation and trend of donkey industry in Europe. *J. Equine Vet. Sci.*, 65, 44-49.
- Chiofalo, B., Salimei, E., Chiofalo, L. (2003). Acidi grassi del latte d'asina: proprietà bio-nutrizionali ed extranutrizionali. *Large Animal Review*, 6, 21-26.
- Cosentino, C., Freschi, P., Paolino, R., Valentini, V. (2013). Market sustainability analysis of jenny milk cosmetics. *Emir. J. Food Agr.*, 635-340.
- Cotte, J. (1991) Le lait, une matiere d'avenir pour la cosmetique. *Le Lait, INRA Editions*, 71, 213-224.
- Cunsolo, V., Muccilli, V., Fasoli, E., Saletti, R., Righetti, P. G., Foti, S. (2011). Poppea's bath liquor: The secret proteome of she-donkey's milk. *J. Proteomics*, 74(10), 2083-2099.
- Devos, M., Mogilenko, D.A., Fleury, S., Gilbert, B., Becquart, C., Quemener, S., Dehond, H., Tougaard, P., Staels, B., Bachert, C., Vandenaabeele, P., Van Loo, G., Declercq, W., Dombrowicz, D. (2019). Keratinocyte expression of A20/TNFAIP3 controls skin inflammation associated with atopic dermatitis and psoriasis. *J. Invest. Dermatol.*, 139(1), 135-145.
- Ellison, R. 3., Giehl, T.J. (1991). Killing of gram-negative bacteria by lactoferrin and lysozyme. *J. Clin. Invest.*, 88(4), 1080-1091.
- Faria-Silva, C., Ascenso, A., Costa, A.M., Marto, J., Carvalheiro, M., Ribeiro, H.M., Simões, S. (2019). Feeding the skin: A new trend in food and cosmetics convergence. *Trends Food Sci. Technol.*, 95, 21-32.
- Ganz, T., Gabayan, V., Liao, H.I., Liu, L., Oren, A., Graf, T, Cole, A.M. (2003). Increased inflammation in lysozyme M-deficient mice in response to *Micrococcus luteus* and its peptidoglycan. *Blood*, 101, 2388-92.
- Hoq, M.I., Ibrahim, H.R. (2011). Potent antimicrobial action of triclosan-lysozyme complex against skin pathogens mediated through drug-targeted delivery mechanism. *Eur. J. Pharma. Sci.*, 42(1-2), 130-137.
- Hvid, M., Johansen, C., Deleuran, B., Kemp, K., Deleuran, M., Vestergaard, C. (2011). Regulation of caspase 14 expression in keratinocytes by inflammatory cytokines – a possible link between reduced skin barrier function and inflammation? *Exp. Dermatol.*, 20(8), 633-636.
- Koutb, M., Khider, M., Ali, E.H., Hussein, N.A. (2016). Antimicrobial activity of donkey milk against dermatomycotic fungi and foodborne bacteria. *Int. J. Biomed. Mat. Res.*, 4, 11-17.
- Massouras, T., Triantaphyllopoulos, K.A., Theodossiou, I. (2017). Chemical composition, protein fraction and fatty acid profile of donkey milk during lactation. *Int. Dairy J.*, 75, 83-90.
- Mazzulla, S., Anile, D., De Sio, S., Scaglione, A., De Seta, M., Anile, A. (2018). In vivo evaluations of emulsion o/w for a new topical anti-aging formulation: short-term and long-term efficacy. *Journal of Cosmetics, Dermatological Sciences and Applications*, 8(3), 110-125.
- Niyonsaba, F., Ogawa, H. (2005). Protective roles of the skin against infection: implication of naturally occurring human antimicrobial agents β -defensins, cathelicidin LL-37 and lysozyme. *J. Dermatol. Sci.*, 40(3), 157-168.

- Rai, M., Ingle, A.P., Pandit, R., Paralikar, P., Gupta, I., Anasane, N., Dolenc-Voljč, M. (2017). Nanotechnology for the treatment of fungal infections on human skin. In *The Microbiology of Skin, Soft Tissue, Bone and Joint Infections*, 169-184. Academic Press.
- Šarić, L.Č., Šarić, B.M., Kravić, S.Ž., Plavšić, D.V., Milovanović, I.L., Gubić, J.M., & Nedeljković, N.M. (2014). Antibacterial activity of Domestic Balkan donkey milk toward *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus*. *Food Feed Res.*, 41(1), 47-54.
- Secchi, G. (2008). Role of Proteins in Cosmetics. *Clin. Dermatol.* 26, 321-325.
- Simos, Y., Metsios, A., Verginadis, I., D'Alessandro, A.G., Loiudice, P., Jirillo, E., Charalampidis, P., Kouimani, V., Boulaka, A., Martemucci, G. and Karkabouna, S. (2011) Antioxidant and Anti-Platelet Properties of Milk from Goat, Donkey and Cow: An In Vitro, Ex Vivo and In Vivo Study. *Int. Dairy J.*, 21, 901-906.
- Sukumaran, V., Senanayake, S. (2016). Bacterial skin and soft tissue infections. *Australian prescriber*, 39(5), 159.
- Tanghetti, E. A. (2013). The role of inflammation in the pathology of acne. *JCAD*, 6(9), 27.
- Tobin, D.J. (2017) Introduction to Skin Aging. *J. Tissue Viability*, 26, 37-46.

USO DEL LATTE D'ASINA IN PAZIENTI CON ALLERGIA ALLE PROTEINE DEL LATTE VACCINO (APLV)

ROBERTA PATACCHIOLA, GIULIA DI DONATO, CHIARA CAUZZO,
SABRINA DI PILLO, FRANCESCO CHIARELLI

Clinica Pediatrica, Università G. D'Annunzio, Ospedale SS. Annunziata Chieti

Una strategia terapeutica efficace per i bambini con APLV consiste nell'uso del latte d'asina (LA), principalmente per:

- le caratteristiche nutrizionali assimilabili al latte materno¹;
- l'eccellente palatabilità, dovuta all'elevato contenuto in lattosio (circa 7 g/100 ml)²;
- l'ipoallergenicità, determinata dal basso contenuto in caseina;
- la maggiore digeribilità;
- l'elevato contenuto di lisozima (1 mg/ml) che, insieme alle immunoglobuline, alla lattoferrina e alla latto-perossidasi esercitano un ruolo fondamentale nell'*immunoregolazione*.

Il LA sembra inoltre contribuire all'assorbimento intestinale di calcio, importante per la mineralizzazione ossea.

Per quanto concerne il contenuto proteico, esso è di poco superiore a quello presente nel latte materno, collocandosi ad un livello nettamente inferiore rispetto a quello del latte di mucca (LV); anche il contenuto di sieroproteine tra LA e LV è simile.

Tuttavia, il LA presenta un basso contenuto di grassi, che corrisponde a un basso valore energetico (408 Kcal/l), per tale motivo è opportuno effettuare integrazione quotidiana tramite utilizzo di lipidi, ad esempio con olio extravergine d'oliva³; infatti nel lattante fino a 12 mesi di vita l'apporto lipidico giornaliero deve rappresentare il 50% del totale apporto nutrizionale e tra i 12 e i 24 mesi, il 40%.

Lo studio di Polidori-Vincenzetti (*Protein Profile Characterization of Donkey Milk*, 2012) ha valutato le caratteristiche proteiche del latte d'asina. In particolare, il contenuto di β -lattoglobulina e α -lattoalbumina sono rispettivamente di 3,75 e 1,8 mg/ml in termini di valori medi; sono state pertanto ribadite le proprietà nutrizionali del latte d'asina caratterizzato da bassi livelli di caseina e alto contenuto di lisozima (1,0 mg/ml) rispetto ad altri tipi di latte⁴.

¹ MARTINI M., ALTOMONTE I., LICITRA R., SALARI F., *Nutritional and nutraceutical quality of donkey Milk*. Journal of Equine Veterinary Science. 2018; 65:33-7.

² MINA MARTINI, Department of Veterinary Science, University of Pisa, Pisa, Italy - *The Rediscovery of Donkey's Milk as Healthy Food for Different Life Stages*, 2019.

³ MONTI G., BERTINO E., MURATORE M.C., COSCIA A., CRESI F., SILVESTRO L., FABRIS C., FORTUNATO D., GIUFFRIDA M.G., CONTI A., *Efficacy of donkey's milk in treating highly problematic cow's milk allergic children: an in vivo and in vitro study*. *Pediatr Allergy Immunol*. 2007; 18:258-64.

⁴ *Protein Profile Characterization of Donkey Milk*, Polidori P., Vincenzetti S., book: Milk Protein (cap 8), agosto 2012.

	Latte materno	Latte vaccino	Latte d'asina
pH	7.0 – 7.5	6.5 – 6.8	7.0 – 7.2
Proteine (g/100 g)	0.9 – 1.7	3.0 – 3.5	1.5 – 1.8
Lipidi (g/100 g)	3.5 – 4.0	3.4 – 4.4	0.3 – 1.8
Lattosio (g/100 g)	6.3 – 7.0	4.8	5.8 – 7.4
Minerali (g/100 g)	0.2 – 0.3	0.8 – 1	0.3 – 0.5
Caseina (g/100 g)	0.32 – 0.42	2.4 – 2.8	0.64 – 1.03
Sieroproteine (g/100 g)	0.68 – 0.83	0.5 – 0.7	0.49 – 0.80
Lattoperossidasi (mg/L)	0.77	30 – 100	0.11
Lisozima (g/L)	0.12	tracce	1.0
Lattoferrina (g/L)	0.3 – 4.2	0.10	0.080

L'utilizzo del latte d'asina in pazienti con APLV è documentato sin dal 1992 da *Iacono et al.* (*Use of ass' milk in multiple food allergy – Iacono G., Carroccio A. et al, Ospedale. G. Di Cristina – Università di Palermo*). Tale studio ha arruolato un gruppo di 9 bambini con poli-allergenicità di età compresa tra 0 e 3 mesi, che non avevano tollerato in precedenza formule idrolisate o latte di soia. All'esordio il quadro clinico comprendeva sintomi di natura gastrointestinale (vomito, diarrea, dolore addominale) e/o documentato scarso accrescimento ponderale, presente già dal primo mese di vita (in 4 pazienti, sin dalla nascita). È emerso che tutti i bambini, trattati con latte d'asina integrato con acidi grassi a media catena (MCT), hanno ben tollerato tale alimento e si è osservato inoltre un aumento significativo e costante di peso (*39,8 g/die*) e un miglioramento delle condizioni generali. È da sottolineare inoltre che, nella totalità dei casi, il LA introdotto tra il secondo e il terzo mese di vita come alimento esclusivo per un periodo variabile tra 15 e 35 giorni, non ha determinato alcuno tipo di reazione allergica⁵.

Successivamente, nel 2000 *Carroccio et al.*, hanno proseguito l'interesse sull'uso di LA in pazienti con APLV, effettuando uno studio caso-controllo di tipo retrospettivo, comprendente due gruppi, di età compresa tra i 10 giorni ed i 9 mesi (mediana 2 mesi):

- A. il gruppo A di 21 bambini (intolleranti a *eHF*) trattati con LA;
- B. il gruppo B di 70 bambini, che hanno invece assunto *eHF*.

A tempo 0, i pazienti presentavano sintomi di natura gastrointestinale e/o scarso accrescimento ponderale.

È stato eseguito follow-up auxologico e controllo nutrizionale ad un anno ed è emerso come non vi fossero differenze statisticamente significative tra i due gruppi, né al momento della diagnosi né al follow-up ad un anno; l'apporto calorico era paragonabile nei due gruppi.

Gli autori hanno dunque ipotizzato che il latte d'asina possa essere un'alternativa efficace e giustificata, soprattutto nei casi di intolleranza ad idrolisati estensivi, che testimonia un'elevata reattività⁶.

Nel 2007 è stato effettuato uno studio dell'equipe della Dottoressa Monti sull'efficacia del latte d'asina in paziente con APLV (*Efficacy of donkey's milk in treating highly problematic cow's milk allergic children: an in vivo and in vitro study, Pediatr Allergy Immunol*). Si tratta di uno studio prospettico, non randomizzato, non controllato, il cui obiettivo principale era

⁵ *Use of ass' milk in multiple food allergy*, Iacono G., Carroccio A. et al, Ospedale. G. Di Cristina, Iacono et al, 1992.

⁶ CARROCCIO A., CAVATAIO F., MONTALTO G., D'AMICO D., ALABRESE L., IACONO G., *Intolerance to hydrolysed cow's milk proteins in infants: clinical characteristics and dietary treatment. Clin Exp All 2000; 30:1597-603.*

quello di valutare la tolleranza in vivo ed in vitro, la palatabilità e l'adeguatezza nutrizionale del LA.

Sono stati arruolati 46 bambini, di età compresa tra 1 e 12 anni (età media 36 mesi), con accertata APLV e per i quali non poteva essere usato uno dei sostituti del LV abitualmente impiegati (*SF, eHF, AAF*), poiché avevano presentato reazioni avverse ad essi.

I sintomi di presentazione iniziale erano di natura cutanea (*dermatite atopica* – 80.4%, *orticaria-angioedema* – 4.34%), gastrointestinale (65.2%, di cui circa il 41% presentava all'esordio *esofagite eosinofila* o *gastroenterocolite eosinofila*, *enteropatia da proteine alimentari*, *malattia da reflusso gastroesofageo (MRGE)* e scarso accrescimento ponderale (24%); infine nell'11% dei casi si era manifestata anafilassi da APLV.

Inoltre, il 76% dei bambini presentava una *poli-allergenicità* per altri alimenti (principalmente al *grano* e all'*uovo*) ed il 72% presentava una forma IgE-mediata di APLV; entrambi risultano essere dati concordi rispetto alla letteratura precedente.

Nel corso dello studio, è stato eseguito un *test in doppio cieco contro placebo (DBPCFC)*: 33 bambini hanno assunto regolarmente ed ininterrottamente il latte per un periodo compreso tra i 2 e i 30 mesi (media 10 mesi, mediana 8 mesi). Sono stati presi in esame peso e statura al tempo 0 e successivamente a 1, 3, 6, 12, 18 e 24 mesi.

Il LA è stato adeguatamente tollerato da tutti i bambini con APLV non IgE-mediata (13 pazienti) e da circa il 76% dei bambini con forma IgE-mediata. Solo 1 degli 11 bambini intolleranti agli *eHF* era intollerante anche al LA. Di contro, solo 1 dei 5 bambini con precedente anafilassi da APLV ha tollerato il LA; il limite di tale riscontro è dal numero esiguo di soggetti presi in esame⁷.

Lo studio a singolo cieco, randomizzato e con crossover, condotto da Vita et al, del 2007 (*Ass's milk in children with atopic dermatitis and cow's milk allergy: Crossover comparison with goat's milk*) ha focalizzato la sua attenzione su pazienti con APLV e sintomi cutanei in particolare con dermatite atopica, valutando anche l'efficacia di utilizzo di latte di capra.

È stato utilizzato lo *SCORAD score* e la *scala VAS* per la valutazione del miglioramento clinico.

Lo studio ha coinvolto 26 bambini con criteri di inclusione:

- età compresa tra 6 e 36 mesi;
- con storia clinica di APLV;
- *Prick test* positivo al LV;
- *DBPCFC* positivo al LV;
- *SCORAD score* >20.

I sintomi comprendevano: orticaria, angioedema, wheezing, vomito, diarrea, dolore addominale, esacerbazione della dermatite atopica ed anafilassi.

Dei 26 bambini presi in esame, 23 hanno presentato positività al challenge orale per latte di capra, mentre la totalità dei bambini ha ben tollerato il latte d'asina non manifestando reazioni avverse⁸.

Il *team* della dottoressa Tesse del Dipartimento Universitario di Allergo-Immunologia Pediatrica dell'Università di Bari nel 2009 ha arruolato 28 bambini con APLV accertata, con media di 4,5 anni (Tesse R., Paglialunga C., Braccio S., et al., *Adequacy and tolerance to ass's milk in an Italian cohort of children with cow's milk allergy*. Ital J Pediatr 2009; 35:19). Si tratta di uno studio prospettico, non randomizzato non controllato.

⁷ MONTI G., BERTINO E., MURATORE M.C., COSCIA A., CRESI F., SILVESTRO L., FABRIS C., FORTUNATO D., GIUFFRIDA M.G., CONTI A., *Efficacy of donkey's milk in treating highly problematic cow's milk allergic children: an in vivo and in vitro study*. Pediatr Allergy Immunol 2007;18:258-64.

⁸ *Ass's milk in children with atopic dermatitis and cow's milk allergy: Crossover comparison with goat's milk*, Vita et al, 2007.

A tutti venivano eseguiti *Skin Prick test (SPT)* per LV e LA ed IgE per *alfa-lattalbumina, beta-lattoglobulina, caseina e LA* e seguiva *DBPCFC*.

Il disegno dello studio includeva follow-up con check-up clinico, valutazione auxologica al T0 e dopo 4-6 mesi (T1) dall'inizio dello studio, parametri biochimici e metabolici (*ferro, calcio, proteine, colesterolo, trigliceridi, glicemia, acido folico, sangue occulto fecale*).

Due bambini su 28 hanno manifestato reazioni sistemiche al DBPCFC con LV ed i genitori hanno rifiutato di proseguire lo studio; i genitori di un altro paziente non hanno invece rilasciato consenso per il challenge tramite TPO con LA.

Pertanto, 25/28 bambini hanno effettuato TPO con LA. Di questi 24 bambini (96%) lo hanno tollerato, 22 con APLV IgE-mediata e 2 con APLV non IgE-mediata.

I parametri auxologici sono migliorati in tutti i bambini al T1 dimostrando che, con una dieta bilanciata per età, il latte d'asina è un valido sostituto in termini di palatabilità e di adeguatezza nutrizionale sia nella forma di APLV IgE mediata che non-IgE mediata, purché non anafilattici e non sensibilizzati verso le proteine del LA (pazienti non inclusi nello studio)⁹.

Nel 2012 il Dottor Monti ha pubblicato un ulteriore studio sulla tollerabilità del LA su una casistica più ampia, di 92 bambini con APLV, di cui 89% con poliallergenicità (prevalentemente a *uova, grano e pesce*). Il LA è stato tollerato dal 87% (20/23) bambini con APLV non-IgE mediata e da 91,3% (63/69) bambini con forma IgE-mediata, facendo emergere dunque una tollerabilità cumulativa del 90,2% sul totale dei soggetti presi in esame¹⁰.

Nel 2018, lo studio prospettico della dottoressa Barni (*Tolerability and palatability of donkey's milk in children with cow's milk allergy, Dr Simona Barni, 2018*) ha valutato la tollerabilità e la palatabilità del LA in una popolazione di 70 bambini (45 maschi e 25 femmine), di età compresa tra i 6 mesi e i 18 anni (età media 5.2 ± 5.3 anni) nel periodo febbraio 2015-ottobre 2017. L'età media di insorgenza della sintomatologia era di 6.9-8.7 anni e la diagnosi di APLV è stata posta sulla base della storia clinica e sull'outcome al test di scatenamento orale (TPO o *oral-food-challenge*).

Riguardo al quadro clinico all'esordio, è stata riscontrata orticaria nel 68.6% dei bambini (48 casi), angioedema nel 28.6% (20), sintomi respiratori nel 11.4% (8), gastrointestinali nel 17.1% (12) e anafilassi nel 18.6% (13).

Su tutti i bambini è stato effettuato il dosaggio delle IgE totali (cut-off: 0,1 KU/L) e specifiche e il Prick-test (cut-off: 3 mm di diametro del pomfo). Si è valutata una cross-reazione elevata tra proteine del latte vaccino e del latte di capra (positività di IgE e Prick test nel 77%), confermando che quest'ultimo non è da considerare come alimento valido nei bambini con APLV.

La palatabilità è stata documentata nei bambini di età ≥ 3 anni (35/67) tramite la *scala modificata del dolore di Wong-Baker* e < 3 anni su giudizio del clinico.

Solo i genitori di 67/70 bambini hanno rilasciato consenso al test di scatenamento orale; di questi solo un paziente ha presentato reazione positiva al TPO, manifestando a 20 minuti dall'ingestione di LA rinorrea e broncospasmo, trattati con antistaminici e broncodilatatori e con risoluzione del quadro ad un'ora.

Per quanto riguarda la palatabilità, 5/35 (14.3%) hanno considerato il LA "delizioso", 17/35 (48.6%) "buono", 4/35 (11.4%) "normale", 3/35 (8.8%) "non buono", 5/35 (14.3%) "di cattivo gusto", 1/35 (2.8%) "decisamente disgustoso".

⁹ TESSE R., PAGLIALUNGA C., BRACCIO S., et al., *Adequacy and tolerance to ass's milk in an Italian cohort of children with cow's milk allergy*. Ital J Pediatr 2009; 35:19.

¹⁰ MONTI G., VIOLA S., BARO C., CRESI F., TOVO P.A., MORO G., FERRERO M.P., CONTI A., BERTINO E., *Tolerability of donkey's milk in 92 highly problematic cow's milk allergic children*. Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents, 2012 Jul-Sep;26(3 Suppl): 75-82.

Gli 11 pazienti, che avevano presentato anafilassi con assunzione di LV, hanno tutti tollerato il LA senza manifestare reazioni avverse, sin dalla prima introduzione di latte in ambiente ospedaliero.

Secondo le linee guida dell'*American Academy of Pediatrics*, un latte per essere considerato "ipoallergenico" deve essere ben tollerato da almeno il 90% dei pazienti in studio, perciò tale lavoro conferma ulteriormente l'impiego del LA nei pazienti con APLV quale formula ipoallergenica. Ha inoltre avvalorato la tollerabilità e la palatabilità del LA, valutando come unico limite all'impiego l'alto costo¹¹.

Più recentemente, anche lo studio prospettico condotto nel 2019 dall'equipe della Dottoressa Lucrezia Sarti (Dipartimento di Allergologia Pediatrica dell'Ospedale Pediatrico Anna Meyer di Firenze – Italia), pubblicato sull'*Italian Journal of Pediatrics*, su bambini di età compresa tra i 6 mesi e i 6 anni di vita, si è prefisso lo scopo di valutare l'impatto nutrizionale del latte d'asina di razza Amiatina (diffusa in Toscana) sulla dieta dei bambini.

I bambini con allergia alle proteine del latte sono stati identificati dall'esecuzione di test in vivo e in vitro ed è stato prescritto latte d'asina ad un gruppo selezionato di pazienti per un periodo di 6 mesi.

Sono stati arruolati dunque 81 bambini, di cui 70 con APLV IgE mediata (*IgE-CMPA*) e 11 con la sindrome da enterocolite indotta da proteine alimentari del latte vaccino (*CM-FPIES*).

Tutti i pazienti, che hanno preso parte alla sperimentazione nutrizionale, hanno tollerato il latte d'asina ed i neonati non hanno modificato il normale tasso di crescita.

In conclusione, il latte d'asina è risultato sicuro in termini di rischi per la salute e nutrizionalmente adeguato, ma non è stato valutato l'impatto sul normale tasso di crescita nei bambini.

Pertanto, da quanto emerge in questo studio, il latte d'asina potrebbe essere un'alternativa adatta per la gestione delle APLV e FPIES mediate da IgE, anche nei primi 6 mesi di vita, se la dieta dei pazienti è adeguatamente integrata in introito lipidico¹².

Pertanto, gli studi presenti finora in letteratura, forniscono promettenti dati riguardo all'efficacia dell'impiego del latte d'asina quale alternativa ai lattini in formula nei pazienti con APLV. Questo alimento sembra essere ipoallergenizzante, nutrizionalmente adeguato, accettato dai piccoli pazienti e associato allo sviluppo di reazioni avverse in una piccola percentuale di casi.

Futuri trial clinici randomizzati dovrebbero essere condotti su una più ampia casistica per confermare questi dati preliminari.

¹¹ *Tolerability and palatability of donkey's milk in children with cow's milk allergy*, Barni S., 2018.

¹² *Donkey's Milk in the Management of Children with Cow's Milk protein allergy: nutritional and hygienic aspects*, Lucrezia Sarti, Mina Martini, Giovanni Brajon, Simona Barni, Federica Salari, Iolanda Altomonte, Giuseppe Ragona, Francesca Mori, Neri Pucci, Giada Muscas, Fina Belli, Franco Corrias and Elio Novembre, *Italian Journal of Pediatrics*, 2019.

Studio	Numerosità del campione	Età	Simtomi	Altri trattamenti	Periodo e dose assunzione LA	Out-come
Iacono et al, 1992	9 bambini non svezzati con poliallergenicità	0-3 mesi	GI (diarrea, vomito, dolore addominale), scarsa accrescimento ponderale	Assenza di miglioramenti con latte di soia o formule semi-elementari di latte/die)	LA (250 mL/kg/die) con MCT (40mL/L di latte/die)	Assenza di reazioni cliniche avverse a LA, incremento di peso 39,8 g/day
Carroccio et al, 2000	Gruppo A: 21 pz intolleranti ad eHF trattati con LA Gruppo B: 70 pz intolleranti a latte vaccino trattati con eHF	2-3 mesi	GI (diarrea, vomito, dolore addominale)	Nessun paziente è risultato intollerante al latte idrolisato	LA 210-250 mL/Kg/die, con MCT (40mL/L di latte/die)	- Nessuno ha presentato intolleranza ad idrolisati - 3/21 pz sono risultati intolleranti al LA (vomito, diarrea) - 52% dei pz trattati con LA è diventato tollerante a latte vaccino (dato più basso rispetto a chi è stato trattato con idrolisati (78%)
Monti et al, 2007	46 bambini con APLV (71,7% IgE mediata) senza possibilità di utilizzo di latte materno, idrolisati, latte di soia, formule con amminoacidi (AAF).	12-149 mesi	Cutanei (dermatite atopica, orticaria, angioedema), GI, anafilassi (5 casi) e ritardo accrescimento ponderale	15% bambini non ha tollerato eHF e ha rifiutato AAF. 85% ha rifiutato sin dall'inizio eHF e AAF	LA 200-500 mL/die in base all'età.	- 82,6% (38 bambini) ha tollerato il LA - 17,2% ha mostrato ipersensibilità al LA - follow-up clinico e auxologico: risultati positivi.
Vita et al, 2007	26 bambini con dermatite atopica e APLV	6-36 mesi	Dermatite atopica (DA)	23/26 a challenge positivo con latte di capra		Tutti hanno presentato miglioramento clinico alla scala VAS con LA
Tesse, Paglialunga, Braccio & Armenio, 2009	25 bambini con APLV (>IgE mediata	6 mesi - 11 anni	Cutanei (DA, orticaria, angioedema), GI e respiratori	Non valutati		- Tollerato al challenge al follow-up a 4-6 mesi dal 96% (24/25) - Buona palatabilità ed accrescimento staturo-ponderale accettato in tutti
Monti et al, 2012	92 bambini con APLV	7,5-121,5 mesi	Cutanei (DA, orticaria, angioedema), GI, ritardo di crescita (scarsa guadagno di peso)	Non valutati	LA 200-500 mL/die in base all'età.	- 90,2% (83 bambini) ha tollerato il LA. - 100% dei pz: aumento dello Z score di peso e altezza (p <0,001).
Barni et al, 2018	67 bambini con APLV	6 mesi - 18 anni	Cutanei (orticaria, angioedema), respiratori, GI e anafilassi	Non valutati	200-500 ml/die in base all'età	- Tollerabilità del 98,5% del LA in pazienti con APLV-IgE mediata - Alta palatabilità (74,6%)
Sarti et al, 2019	81 pz arruolati con APLV a 22 hanno assunto LA	6 mesi - 6 anni	Gastrointestinali e scarso accrescimento	Non valutati	200-500 ml/die in base all'età	- Follow-up di 6 mesi - Il LA è un'alternativa valida anche nei bambini di 6 mesi se integrato con introito lipidico

L'ALLERGIA ALLE PROTEINE DEL LATTE VACCINO IN ETÀ PEDIATRICA

GIULIA DI DONATO, ROBERTA PATACCHIOLA, CHIARA CAUZZO,
SABRINA DI PILLO, FRANCESCO CHIARELLI

Clinica Pediatrica, Università G. D'Annunzio, Ospedale SS. Annunziata Chieti

BACKGROUND

L'allergia alimentare è un fenomeno crescente, soprattutto nei Paesi industrializzati nei quali coinvolge il 6% dei pazienti in età pediatrica. Secondo le linee guida NICE, l'ipotesi diagnostica di allergia alimentare dovrebbe essere considerata in bambini con familiarità per patologie allergiche ed in quelli trattati per forme moderate o severe di dermatite atopica, malattia da reflusso gastroesofageo (MRGE) o altri sintomi gastrointestinali persistenti (coliche, diarrea, stipsi) che non abbiano risposto ai trattamenti convenzionali. L'allergia alle proteine del latte vaccino (APLV) è la causa più frequente di allergia alimentare in età pediatrica, con una prevalenza del 1.9-4.9% nel primo anno di vita. La prognosi dell'APLV è buona, dato che fino all'80-90% dei pazienti sembra sviluppare una tolleranza entro i tre anni di vita; tuttavia l'APLV può persistere fino all'età scolare ed essere associata allo sviluppo successivo di altre patologie allergiche, quali asma, rino-congiuntivite e dermatite atopica, così come dolori addominali ricorrenti.

I principali allergeni coinvolti nell'APLV sono le sieroproteine (alfa-lattoalbumina, beta-lattoglobulina, albumina sierica bovina e immunoglobuline bovine) e le frazioni della caseina (alfa s1, alfa s2, beta e kappa caseina). I sintomi correlati si presentano solitamente nei primi 6 mesi di vita, soprattutto nel primo mese, circa una settimana dopo l'introduzione delle proteine del latte vaccino (PLV) nella dieta. Raramente l'esordio dei sintomi si ha dopo l'anno. La maggior parte dei pazienti presentano più sintomi che coinvolgono uno o più sistemi, soprattutto il tratto gastrointestinale e la cute. Inoltre le allergie alimentari sono spesso associate a sintomi extra-intestinali quali scarso accrescimento, astenia, cefalea, occhiaie, sudorazione notturna, enuresi, disturbi del sonno, ulcere cutanee, artralgie, irritabilità. L'APLV può essere IgE-mediata o non-IgE-mediata. I sintomi dovuti a reazioni non-IgE-mediate compaiono solitamente ad almeno due ore di distanza dall'ingestione, sono lievi-moderati e coinvolgono cute (eczema) e tratto gastrointestinale (stipsi, vomito, malassorbimento, atrofia dei villi, enterocolite, esofagite eosinofila). Sintomi quali orticaria, angioedema, diarrea, vomito, wheezing sono invece IgE-mediati e si presentano pochi minuti dopo o entro due ore dall'ingestione dell'alimento. La maggioranza delle manifestazioni sono lievi o moderate, ma reazioni anafilattiche possono comparire nell'1-2% dei casi. In tal caso è tipica la presenza di elevati livelli di IgE specifiche. Altre manifestazioni non-IgE-mediate includono la *food-protein-induced enterocolitis syndrome (PFIES)*, la *food-protein-induced enteropathy*, la *food-protein-induced proctitis and proctocolitis* e la *food-induced pulmonary hemosiderosis (sindrome di Heiner)*. Sintomi cutanei, come l'eczema, e disordini gastrointestinali eosinofilici possono essere dovuti ad un meccanismo misto IgE- e non-IgE-mediato che coinvolge reazioni umorali e/o cellulo-mediate.

Sintomi generali	Anafilassi Food-protein-induced enterocolitis syndrome (PFIES)
Sintomi cutanei	Orticaria, angioedema Dermatite atopica
Sintomi gastrointestinali	Scarso accrescimento, anoressia, sazietà precoce, rifiuto dell'alimentazione Disfagia, dispepsia Dolori addominali, coliche Nausea, vomito, rigurgiti Diarrea con o senza sanguinamento o perdita di proteine Stipsi con o senza rash perianale Anemia sideropenica dovuta a perdita ematica occulta
Sintomi respiratori	Wheezing, stridore Tosse cronica, ostruzione nasale Distress respiratorio

Tab. 1 - Segni e sintomi di APLV.

LINEE GUIDA PER LA DIAGNOSI DI APLV

Nel 2012 l'ESPGHAN ha proposto un algoritmo per la valutazione diagnostica di lattanti e bambini con sintomi compatibili con APLV. Oltre all'anamnesi e all'esame obiettivo, fanno parte del work-up diete di eliminazione diagnostiche, Test di Provocazione Orale (TPO), Skin Prick Test (SPT) e dosaggio delle IgE specifiche.

Per la diagnosi delle forme di APLV IgE-mediata, l'esecuzione di SPT e il dosaggio delle IgE specifiche non sono raccomandati di routine, poiché presentano alta sensibilità ma bassa specificità, con una buona quota di falsi negativi. Un SPT positivo o IgE specifiche aumentate, d'altra parte, possono indicare semplicemente la presenza di sensibilizzazione e non di allergia clinicamente significativa (falsi positivi). Tuttavia, un test positivo in associazione a una clinica e un'anamnesi suggestiva può aiutare a confermare la diagnosi. Raramente è necessario un TPO diagnostico, da eseguire preferibilmente in ambiente protetto. I pazienti con APLV IgE-mediata che abbiano elevati livelli di IgE totali, IgE specifiche per il latte, allergie alimentari multiple e sintomi respiratori associati (rinite, asma) sono a maggior rischio di persistenza dei sintomi nell'età scolare e in adolescenza. La probabilità di sviluppare tolleranza aumenta invece nei pazienti con bassi livelli di IgE latte-specifiche e con presenza di IgE specifiche per alfa-lattoalbumina, beta-lattoglobulina e alfa-s1-caseina. Per la diagnosi di APLV non-IgE-mediata non ci sono test validati, ma si ricorre ad una dieta di esclusione diagnostica per almeno 2-4 settimane, seguita da un tentativo di reintroduzione dell'alimento che mostri la ricomparsa dei sintomi, confermando la diagnosi. Nel caso di bambini con sintomi da sospetta APLV allattati al seno, si consiglia eliminazione dalla dieta materna di latte e derivati per almeno 2-4 settimane, seguita, in caso di scomparsa dei sintomi, da una graduale reintroduzione in una settimana di tali alimenti. In caso di ricomparsa di sintomi la diagnosi è confermata. Nel caso di bambini alimentati con latte in formula o con allattamento misto, se non fosse possibile tornare ad un allattamento materno esclusivo, si effettua un trial di 2-4 settimane con latte in formula idrolisato estensivo (eHF), con successiva reintroduzione di PLV per la conferma diagnostica. Se i sintomi non migliorano con l'assunzione di eHF ma sussiste un forte sospetto diagnostico di APLV, si consiglia di eseguire un trial con formule a base di aminoacidi (AAF).

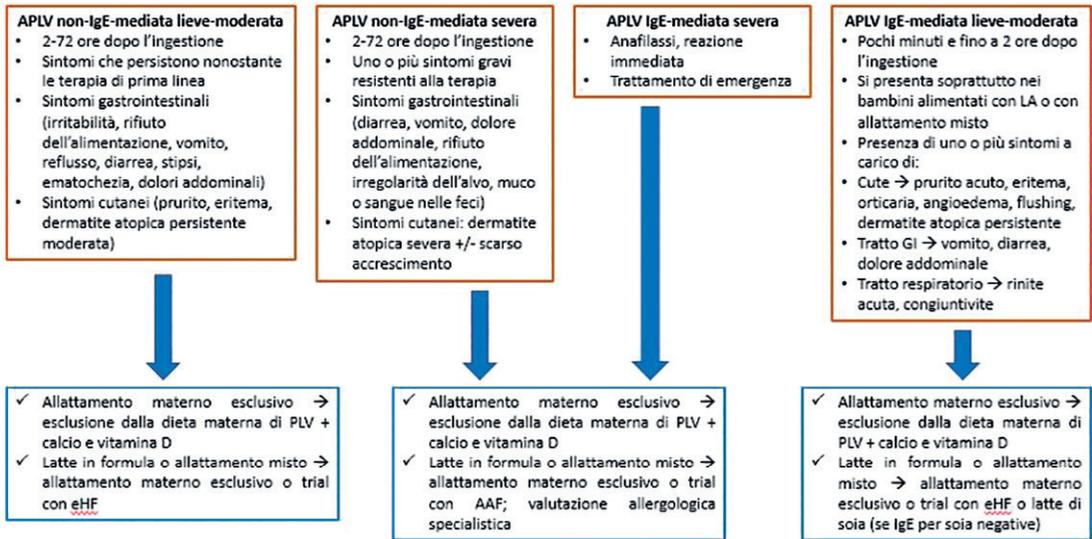


Fig. 1 - Presentazione e diagnosi dell'APLV nel primo anno di vita.

OPZIONI TERAPEUTICHE

Se confermata la diagnosi di APLV, la dieta di esclusione dovrebbe essere proseguita per almeno 6 mesi o fino ai 9-12 mesi di età. Successivamente una graduale reintroduzione dell'alimento permetterà di determinare l'eventuale acquisizione di tolleranza. Secondo le linee guida BSACI, se il piccolo paziente non ha dermatite o una storia di reazioni severe, tale reintroduzione può essere effettuata a domicilio, partendo dall'utilizzo di alimenti cotti per arrivare a formaggi freschi e latte crudo ("Milk Ladder"). In caso contrario sarà necessario far riferimento ad un centro di allergologia per il dosaggio delle IgE, l'esecuzione di SPT ed eventualmente l'effettuazione di un challenge in ambiente ospedaliero.

Per quanto riguarda la gestione terapeutica dell'APLV, si consiglia in ogni caso di incoraggiare l'allattamento materno. La madre dovrà eseguire una dieta di esclusione di latte e derivati, con supplementazione di calcio e vitamina D. In caso di mancata disponibilità di latte materno, sarà necessario ricorrere all'uso di latti in formula speciali. I **latti idrolisati estensivi** (*extensively hydrolysed formulae-eHF*) contengono oligopeptidi con peso molecolare inferiore ai 3000 Dalton per cui sono tollerati da più del 90% dei lattanti affetti da APLV. Pertanto, essi rimangono la prima opzione per il trattamento della maggior parte dei pazienti. In particolare, l'uso di eHF è raccomandato come terapia di prima linea nei lattanti con sintomi lievi-moderati (eczema, coliche, reflusso, diarrea) in assenza di deficit di crescita. Le **formule a base di proteine della soia (SF)** possono essere utilizzate sopra i 6 mesi di vita nei pazienti che non tollerano l'assunzione di eHF, in particolare nelle forme di APLV IgE-mediata e con IgE specifiche per la soia negative. Bisogna infatti considerare che il 10-14% dei bambini con APLV IgE-mediata presenta reazioni alla soia, ma tale percentuale aumenta nelle forme non-IgE-mediate (25-60%). Le formule a base di soia contengono inoltre fitati, che limitano l'assorbimento dei nutrienti, e isoflavonoidi in concentrazioni che rendono questo alimento non adatto a lattanti con età inferiore a 6 mesi. L'efficacia clinica degli **idrolisati parziali ed estensivi di riso** sembra buona, vista la completa assenza di allergeni del latte vaccino, ma permangono dubbi sul valore nutritivo di questi latti, che sono dunque utilizzati come terza scelta in pazienti che non tollerano l'assunzione di eHF. Le linee guida BSACI raccomanda-

no infine l'utilizzo di **formule a base di aminoacidi liberi (AAF)** come terapia di prima scelta solo in caso di APLV grave, con storia di anafilassi, sindrome di Heiner, esofagite eosinofila e sintomi cutanei e/o gastrointestinali severi associati a scarso accrescimento, nonché nei pazienti con allergie alimentari multiple. Nei **latti parzialmente idrolisati (partially hydrolysed formulae-pHF)** il processo di idrolisi delle PLV è solo parziale, per cui una quota di peptidi presenti ha un peso molecolare maggiore di 5.000 Dalton, il che determina la comparsa di reazioni allergiche in una buona percentuale di lattanti. Pertanto gli idrolisati parziali non sono utili nella terapia di pazienti con APLV ma possono essere utilizzati nella prevenzione dell'allergia in lattanti a rischio. Secondo le recenti linee guida, i lattanti con un rischio documentato di allergia che non siano alimentati esclusivamente al seno materno possono beneficiare dell'utilizzo di pHF per la prevenzione di reazioni allergiche, quali la dermatite atopica.

	Linee guida DRACMA		Linee guida ESPGHAN	
	I linea	II linea	I linea	II linea
Sintomi GI	eHF	AAF	eHF	AAF
Proctocolite			eHF	AAF
Esofagite eosinofila			AAF	
Sintomi IgE-mediati a insorgenza rapida	eHF	AAF/soia	eHF	AAF
FPIES	eHF	AAF	eHF	AAF
Dermatite atopica	eHF	AAF/soia	eHF	AAF
Orticaria	eHF	AAF/soia	eHF	AAF
Stipsi	eHF	AAF		
S. di Heiner	AAF	eHF		

Tab. 2 - Opzioni terapeutiche per diversi segni e sintomi di APLV.

BIBLIOGRAFIA

- ESPGHAN Committee on Nutrition, Agostoni C, Decsi T, Fewtrell M, Goulet O, Kolacek S et al (2008) *Complementary feeding: a commentary by the ESPGHAN Committee on Nutrition*. J Pediatr Gastroenterol Nutr 46:99-110
- Fiocchi A., Brozek J. Et al. *World Allergy Organization (WAO) diagnosis and rationale for action against cow's milk allergy (DRACMA) guidelines*. World Allergy Organ J. 2010, 3:157-161
- Fox A., Brown T. et al. *An update to the milk allergy in primary care guideline*. Clin Transl Allergy. 2019, 9:40
- Koletzko S., Niggemann B., et al. *Diagnostic approach and management of cow's-milk protein allergy in infants and children: ESPGHAN GI Committee practical guidelines*. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2012, 55(2):221-229.
- Lifschitz C., Szajewska H. *Cow's milk allergy: evidence-based diagnosis and management for the practitioner*. Eur J Pediatr. 2015, 174:141-150
- Luyt D., Ball H. et al. (2014) *BSACI guideline for the diagnosis and management of cow's milk allergy*. Clin Exp Allergy 44:642-672
- National Institute for Health and Clinical Excellence, NICE: *Diagnosis and assessment of food allergy in children and young people in primary care and community settings*. London 2011.
- Vandenplas Y. *Prevention and management of cow's milk allergy in non-exclusively breastfed infants*. Nutrients. 2017.
- Venter C., Brown T. et al. *Diagnosis and management of non-IgE-mediated cow's milk allergy in infancy – a UK primary care practical guide*. Clin Transl Allergy. 2013, 3(1):23

DIAGNOSTICA MOLECOLARE NELL'ALLERGIA ALLE PROTEINE DEL LATTE VACCINO (APLV)

CHIARA CAUZZO, ROBERTA PATACCHIOLA, GIULIA DI DONATO,
SABRINA DI PILLO, FRANCESCO CHIARELLI

Clinica Pediatrica, Università G. D'Annunzio, Ospedale SS. Annunziata Chieti

La diagnosi di allergia alle proteine del latte vaccino si basa su una storia clinica compatibile e sui risultati di test in vivo (skin prick test, SPT) e in vitro (dosaggio di IgE specifiche, sIgE). Sia gli SPT che la ricerca delle sIgE hanno buona sensibilità ma bassa specificità, potendo quindi risultare positivi in soggetti non allergici. Per questo motivo il test di provocazione orale (TPO) rimane il gold standard diagnostico, nonostante esistano rischi per il paziente correlati all'esecuzione di tale test.

Attualmente l'uso della diagnostica molecolare con il dosaggio degli allergeni ricombinanti delle proteine del latte vaccino permette di evitare il test di scatenamento e consente di prevedere la gravità della reazione allergica. Inoltre tale diagnostica indirizza verso una dieta mirata e personalizzata, in grado di distinguere tra l'assunzione del latte fresco o sottoposto a cottura.

ALLERGENI MAGGIORI E PRINCIPALI ALLERGENI MINORI DEL LATTE VACCINO

Le proteine contenute nel latte vaccino vengono classificate come allergeni alimentari di classe I a causa della loro resistenza ai processi digestivi e al calore. Hanno elevata omologia di sequenza (>80%) con le proteine contenute nel latte di capra e di pecora e hanno elevata cross-reattività con esse (>90%). Al contrario, la cross-reattività clinica e laboratoristica è molto bassa (<5%) con il latte d'asina, di cavalla, di bufala o di cammella.

Il latte vaccino contiene circa 30-35 g di proteine per litro, che, per azione della rennina o in seguito ad acidificazione del latte a pH 4.6, segregano in 2 distinte frazioni:

- caglio, contenente approssimativamente l'80% delle proteine del latte vaccino, in particolare la famiglia delle caseine;
- siero, contenente il restante 20% delle proteine.

Tutte le proteine presenti nel latte vaccino sono presenti anche nel latte materno, ad eccezione della beta-lattoglobulina. Caseine, beta-lattoglobulina e alfa-lattoalbumina sono definite allergeni maggiori, infatti più del 50% degli individui con allergia al latte vaccino sviluppano sensibilizzazione a queste proteine. La maggior parte dei pazienti tuttavia sviluppa una polisensibilizzazione a numerose proteine.

La frazione caseinica, contenuta nel caglio, è molto resistente alle elevate temperature, conservando legami forti con le IgE dopo 90 minuti di ebollizione a temperatura superiore a 90°C. Le caseine esistono sotto forma di complessi colloidali chiamati micelle, costituite da un core amorfo ricco in calcio e fosfato ricoperto da un rivestimento caseinico.

- **Alfa-s1 caseina** è la proteina più abbondante presente nel latte vaccino. Esiste in un'isoforma maggiore e in un'isoforma minore ed è altamente fosforilata.
- **Alfa-s2 caseina** è anch'essa altamente fosforilata ed esiste in 4 diverse isoforme.
- **Beta-caseina** esiste in un'unica isoforma. L'idrolisi parziale della beta-caseina da parte di peptidi endogeni presenti nel latte (p.e. plasmina) produce gamma-caseine 1, 2 e 3.

- **Kappa-caseina** è l'unica caseina solubile in presenza di ioni calcio. Inoltre contiene la minor quantità di fosfato, con siti di fosforilazione presenti solo a livello della regione C-terminale. È l'unica caseina che contiene residui di carboidrati.

La frazione sierica del latte è costituita da beta-lattoglobulina (circa 65%), alfa-lattoalbumina (circa 25%), albumina sierica bovina (circa 8%) e immunoglobuline.

Le proteine sieriche sono solubili indipendentemente dal pH e sono più sensibili al calore rispetto alle caseine, perciò perdono i legami con le IgE circa 15-20 minuti dopo ebollizione a temperatura superiore a 90°C.

Alfa-lattoalbumina è una proteina presente nel latte di quasi tutti i mammiferi. Nei primati l'espressione di alfa-lattoalbumina viene up-regolata in risposta all'ormone prolattina e a sua volta stimola la produzione di lattosio. L'alfa-lattoalbumina costituisce la subunità regolatoria dell'eterodimero lattosio-sintasi, mentre la beta-1,4-galattosiltransferasi ne forma la componente catalitica. Insieme queste proteine consentono all'enzima lattosio-sintasi di produrre lattosio trasferendo i residui di galattosio alle molecole di glucosio. Essendo una proteina multimerica l'alfa-lattoalbumina crea legami forti con ioni calcio e ioni zinco e potrebbe possedere attività battericida e/o antitumorale.

Beta-lattoglobulina in condizioni fisiologiche forma dimeri, ma si dissocia in monomeri quando il pH è inferiore a 3. Le soluzioni di beta-lattoglobulina costituiscono un gel in varie condizioni, quando la struttura nativa è sufficientemente destabilizzata da permettere l'aggregazione. Non è stata individuata una chiara funzione di questa proteina, sebbene essa sia in grado di legare diverse molecole idrofobiche, suggerendo un potenziale ruolo nel trasporto di esse. La beta-lattoglobulina è l'unica proteina del latte vaccino non presente nel latte umano.

Albumina sierica bovina (BSA) è una proteina sierica globulare, idrosolubile, non glicosilata. La sua funzione principale è quella di proteina carrier per steroidi, acidi grassi e ormoni tiroidei nel torrente ematico e gioca un ruolo importante nella stabilizzazione del volume di fluido extracellulare contribuendo a determinare la pressione oncotica plasmatica. La BSA possiede elevata omologia di sequenza con l'albumina sierica umana e con le albumine di altre specie, per esempio di bovino, di cane e di gatto. La BSA è stata identificata come uno degli allergeni maggiori della carne di manzo ed è responsabile della cross-reattività tra latte vaccino e carne di manzo cruda.

Le **Immunoglobuline** presenti nel latte vaccino sono prevalentemente di classe G e possono avere un ruolo nella cross-reattività con la carne di manzo.

Lattoferrina è un allergene minore del latte vaccino. È una glicoproteina globulare con peso molecolare di circa 80 kDa, altamente rappresentata in vari fluidi secretori come latte, saliva, lacrime e secrezioni nasali. La lattoferrina, appartenente alla famiglia della transferrina, è una delle proteine che trasportano lo ione ferro all'interno delle cellule, controllando in tal modo il livello di ferro libero nel sangue e nelle secrezioni. La lattoferrina possiede inoltre attività antimicrobica (battericida, fungicida) ed è parte dell'immunità innata, soprattutto a livello mucosale.

SENSIBILIZZAZIONE ALLE DIVERSE MOLECOLE E RILEVANZA CLINICA

La maggior parte dei soggetti colpiti è polisensibilizzata a diverse caseine e proteine sieriche del latte. Le caseine, la beta-lattoglobulina e l'alfa-lattoalbumina costituiscono gli allergeni maggiori: oltre il 50% dei soggetti allergici al latte vaccino mostrano evidenza di anticorpi IgE diretti contro queste proteine.

La sensibilizzazione IgE verso caseine, beta-lattoglobulina e alfa-lattoalbumina è strettamente correlata, mentre la sensibilizzazione IgE verso l'albumina sierica bovina è indipendente dalle altre proteine del latte vaccino e può riflettere la reattività crociata con la carne di manzo (Tabella 1).

La diagnostica molecolare può essere utile per monitorare lo spontaneo sviluppo di tolleranza: livelli sierici inferiori di IgE specifiche per alfa-lattoalbumina, beta-lattoglobulina, kappa-caseina e alfa-s1-caseina sono stati associati a maggiore probabilità di risoluzione dell'APLV.

È stato dimostrato inoltre che i bambini con allergia persistente alle proteine del latte vaccino generano prevalentemente anticorpi IgE diretti contro epitopi sequenziali della caseina.

I pazienti che sviluppano più precocemente tolleranza mostrano una riduzione del numero di legami delle IgE con gli epitopi delle PLV, mentre nei pazienti con APLV persistente il numero di tali legami è stabile nel tempo.

Tab. 1 - Sensibilizzazione e cross-reattività delle proteine del latte vaccino

Allergene	Allergenicità	% di sensibilizzazione nei soggetti con allergia a PLV	Cross-reattività laboratoristica	Cross-reattività clinica
Caglio				
Caseine (Bos d 8)	maggiore	63%	> 85% con caseine del latte di pecora e di capra	> 90% con latte di altri mammiferi
Alfa-s1-caseina (Bos d 9)	maggiore	98%*		
Alfa-s2-caseina (Bos d 10)	maggiore	94%*		
Beta-caseina (Bos d 11)	maggiore	91%*		
Kappa-caseina (Bos d 12)	maggiore	91%*		
Frazione sierica				
Alfa-lattoglobulina (Bos d 4)	maggiore	51%		
Beta-lattoglobulina (Bos d 5)	maggiore	61%		
Albumina sierica bovina (Bos d 6)	minore	43%	80% con carne di manzo	15-20% con carne di manzo cruda
Immunoglobuline (Bos d 7)	minore	36%		
Lattoferrina	minore	35%		

* Percentuale dei soggetti sensibilizzati alla caseina Bos d 8 (16)

EFFETTO DEL CALORE SULL'ALLERGENICITÀ DELLE PROTEINE DEL LATTE VACCINO

La maggior parte (70-80%) dei bambini allergici alle PLV tollerano il latte vaccino come ingrediente nei prodotti da forno. La reattività al latte cotto è un indicatore di APLV più grave e persistente.

Dal momento che le caseine sono più termoresistenti rispetto alle proteine sieriche del latte, livelli elevati di anticorpi IgE specifici per la caseina sono predittivi della reattività clinica al latte cotto.

Attraverso un microarray peptidico competitivo è possibile evidenziare come i pazienti allergici alle PLV mostrino una combinazione di legami IgE ad alta e a bassa affinità, mentre

i soggetti con tolleranza al latte cotto e quelli con pregressa allergia alle PLV che hanno sviluppato tolleranza mostrino prevalentemente legami IgE a bassa affinità.

Un numero più elevato di legami delle IgE con le PLV è stato inoltre associato a reazioni allergiche più gravi durante il test di provocazione orale.

GESTIONE CLINICA

La diagnosi di allergia alle PLV inizia con un'accurata valutazione della storia clinica e con la valutazione del potenziale meccanismo immunologico coinvolto:

1. Sospetta APLV IgE-mediata

I test eseguiti di routine comprendono: skin prick test (SPT) e/o test sierologico (IgE specifiche per latte, sIgE). La diagnosi molecolare non è raccomandata per la valutazione standard nel sospetto di allergia a PLV, ma può essere utile nella valutazione della reattività al latte cotto, basandosi sulla diversa resistenza al calore delle proteine del latte vaccino. Dal momento che le caseine sono più termoresistenti, livelli più elevati di IgE specifiche per la caseina sono associati ad un'aumentata probabilità di reazione al latte cotto.

Diversi studi indicano inoltre che la diagnostica molecolare potrebbe essere utile nel monitoraggio dell'allergia alle proteine del latte vaccino e nella previsione di una sua eventuale risoluzione.

Challenge di eliminazione: in generale la diagnosi conclusiva di allergia alle PLV richiede l'eliminazione dalla dieta delle proteine del latte vaccino, seguita da un test di provocazione orale in ambiente protetto.

Si raccomanda inoltre di eseguire l'iniziale valutazione della reattività al latte cotto sotto supervisione medica, dato il possibile sviluppo di anafilassi.

2. Sospetta APLV non IgE-mediata

Non vi sono test laboratoristici diagnostici per l'allergia non IgE-mediata alle proteine del latte vaccino. Il patch test può essere considerato in casi selezionati, ma non ha valore diagnostico. La conferma diagnostica di allergia non IgE-mediata, analogamente a quella IgE-mediata, richiede l'eliminazione dalla dieta delle proteine del latte vaccino, seguita da un test di provocazione orale.

NUOVE TERAPIE PER L'ALLERGIA ALLE PROTEINE DEL LATTE VACCINO

Nei pazienti con APLV sono state valutate le seguenti vie per l'immunoterapia specifica: orale (OIT); sublinguale (SLIT); epicutanea (EPIT).

In un trial di comparazione tra le diverse vie è stata evidenziata desensibilizzazione nel 10% dei pazienti sottoposti a SLIT (dose giornaliera di mantenimento pari a 7 mg), nel 60% dei pazienti sottoposti a SLIT associata a OIT a basso dosaggio (dose giornaliera di mantenimento 1.000 mg) e nell'80% dei pazienti sottoposti a SLIT associata a OIT a dosaggio più elevato (dose giornaliera di mantenimento 2.000 mg).

Generalmente l'immunoterapia sublinguale si associa ad effetti collaterali più lievi, in particolare prurito orofaringeo, mentre l'OIT si associa ad effetti collaterali sistemici che coinvolgono il tratto gastro-enterico (nausea, vomito, dolore addominale, diarrea) o il tratto respiratorio (rinorrea, starnutazione, congestione, tosse, wheezing).

Sono necessari ulteriori studi per determinare il potenziale dell'immunoterapia specifica nell'induzione di tolleranza permanente al latte.

La diagnostica molecolare può essere utilizzata per identificare soggetti con rischio più elevato di sviluppare effetti avversi all'OIT (oral immunotherapy) e per monitorare l'evoluzione dei parametri immunologici durante l'OIT, correlandoli alla desensibilizzazione e alla tolleranza.

I bambini con maggior rischio di sviluppare effetti avversi all'OIT presentano un livello più elevato di IgE legate alle caseine sia prima che durante l'OIT.

Nei bambini che raggiungono la desensibilizzazione si osserva la riduzione del numero dei legami delle proteine del latte vaccino con le IgE e l'aumento dei legami con IgG4.

Di conseguenza l'analisi dettagliata dei legami delle proteine del latte vaccino con IgE e IgG4 può contribuire a predire se l'OIT sarà ben tollerata dal paziente, aumentando così la sicurezza stessa dell'immunoterapia specifica per latte.

In conclusione il dosaggio degli allergeni ricombinanti fornisce indicazioni utili nella previsione della gravità della reazione allergica e consente di indirizzare il paziente verso una dieta personalizzata di esclusione del latte vaccino, distinguendo tra l'assunzione del latte fresco o sottoposto a cottura. Tale diagnostica inoltre è utile nella scelta di intraprendere la terapia desensibilizzante e nella previsione degli effetti collaterali ad essa correlati.

BIBLIOGRAFIA

- Albin S, Nowak-Wegrzyn A. Potential treatments for food allergy. *Immunol Allergy Clin North Am* 2015; 35: 77-100.
- Bijl E, van Valenberg HJ, Huppertz T, van Hooijdonk AC. Protein, casein, and micellar salts in milk: current content and historical perspectives. *J Dairy Sci* 2013; 96: 5455-64.
- Bloom KA, Huang FR, Bencharitiwong R, et al. Effect of heat treatment on milk and egg proteins allergenicity. *Pediatr Allergy Immunol* 2014; 25: 740-6.
- Caubet JC, Nowak-Wegrzyn A, Moshier E, Godbold J, Wang J, Sampson HA. Utility of casein-specific IgE levels in predicting reactivity to baked milk. *J Allergy Clin Immunol* 2013; 131: 222-4.
- Cerecedo I, Zamora J, Shreffler WG, et al. Mapping of the IgE and IgG4 sequential epitopes of milk allergens with a peptide microarray-based immunoassay. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 122: 589-94.
- Chatchatee P, Jarvinen KM, Bardina L, Beyer K, Sampson HA. Identification of IgE- and IgG-binding epitopes on alpha (s1)-casein: differences in patients with persistent and transient cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 107: 379-83.
- Fiocchi A, Dahdah L, Albarini M, Martelli A. Cow's milk allergy in children and adults. *Chem Immunol Allergy* 2015; 101: 114-23.
- Garcia-Ara MC, Boyano-Martinez MT, Diaz-Pena JM, Martin-Munoz MF, Martin-Esteban M. Cow's milk-specific immunoglobulin E levels as predictors of clinical reactivity in the follow-up of the cow's milk allergy infants. *Clin Exp Allergy* 2004; 34: 866-70.
- Keet CA, Frischmeyer-Guerrero PA, Thyagarajan A et al. The safety and efficacy of sublingual and oral immunotherapy for milk allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2012; 129: 448-55
- Martinez-Botas J, Rodriguez-Alvarez M, Cerecedo I, et al. Identification of novel peptide biomarkers to predict safety and efficacy of cow's milk oral immunotherapy by peptide microarray. *Clin Exp Allergy* 2015; 45: 1071-84.
- Martorell-Aragones A, Echeverria-Zudaire L, Alonso-Lebrero E et al. Position document: IgE-mediated cow's milk allergy. *Allergol Immunopathol (Madr)* 2015; 43: 507-26.

- Matricardi PM et al, EAACI Molecular Allergology User's Guide. *Pediatric Allergy and Immunology* 2016; 27: (suppl23): 1-250.
- Nowak-Węgrzyn A, Bloom KA, Sicherer SH et al. Tolerance to extensively heated milk in children with cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 122: 342-7.
- Nwaru BI, Hickstein L, Panesar SS et al. Prevalence of common food allergies in Europe: a systematic review and meta-analysis. *Allergy* 2014; 69: 992-1007.
- Restani P, Ballabio C, Cattaneo A, Isoardi P, Terracciano L, Fiocchi A. Characterization of bovine serum albumin epitopes and their role in allergic reactions. *Allergy* 2004; 59 (Suppl. 78): 21-4.
- Restani P, Ballabio C, Tripodi S, Fiocchi A. Meat allergy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2009; 9: 265-9.
- Restani P, Beretta B, Fiocchi A, Ballabio C, Galli CL. Cross-reactivity between mammalian proteins. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2002; 89: 11-5.
- Rona RJ, Keil T, Summers C, et al. The prevalence of food allergy: a meta-analysis. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 120: 638-46.
- Sampson HA, Aceves S, Bock SA, et al. Food allergy: a practice parameter update- 2014. *J Allergy Clin Immunol* 2014; 134: 1016-25.
- Savilahti EM, Kuitunen M, Valori M, et al. Use of IgE and IgG4 epitope binding to predict the outcome of oral immunotherapy in cow's milk allergy. *Pediatr Allergy Immunol* 2014; 25: 227-35.
- Savilahti EM, Rantanen V, Lin JS et al. Early recovery from cow's milk allergy is associated with decreasing IgE and increasing IgG4 binding to cow's milk epitopes. *J Allergy Clin Immunol* 2010; 125: 1315-21.
- Tsabouri S, Douros K, Priftis KN. Cow's milk allergenicity. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets* 2014; 14: 16-26.
- Werfel SJ, Cooke SK, Sampson HA. Clinical reactivity to beef in children allergic to cow's milk. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 99: 293-300.

NELLA STESSA COLLANA SONO STATI PUBBLICATI I SEGUENTI VOLUMI:

- | | | | |
|-----------|---|-----------|---|
| 1 - 1979 | Infezioni respiratorie del bovino | 20 - 1988 | Trentennale della Fondazione Iniziative Zooprofilattiche e Zootecniche di Brescia, 1956-1986 |
| 2 - 1980 | L'oggi e il domani della sulfamidoterapia veterinaria | 21 - 1989 | Le infezioni erpetiche del bovino e del suino |
| 3 - 1980 | Ormoni della riproduzione e Medicina Veterinaria | 22 - 1989 | Nuove frontiere della diagnostica nelle scienze veterinarie |
| 4 - 1980 | Gli antibiotici nella pratica veterinaria | 23 - 1989 | La rabbia silvestre: risultati e prospettive della vaccinazione orale in Europa |
| 5 - 1981 | La leucosi bovina enzootica | 24 - 1989 | Chick Anemia ed infezioni enteriche virali nei volatili |
| 6 - 1981 | La «Scuola per la Ricerca Scientifica» di Brescia | 25 - 1990 | Mappaggio del genoma bovino |
| 7 - 1982 | Gli indicatori di Sanità Veterinaria nel Servizio Sanitario Nazionale | 26 - 1990 | Riproduzione nella specie suina |
| 8 - 1982 | Le elmintiasi nell'allevamento intensivo del bovino | 27 - 1990 | La nube di Chernobyl sul territorio bresciano |
| 9 - 1983 | Zoonosi ed animali da compagnia | 28 - 1991 | Le immunodeficienze da retrovirus e le encefalopatie spongiformi |
| 10 - 1983 | Le infezioni da Escherichia coli degli animali | 29 - 1991 | La sindrome chetotica nel bovino |
| 11 - 1983 | Immunogenetica animale e immunopatologia veterinaria | 30 - 1991 | Atti del convegno annuale del gruppo di lavoro delle regioni alpine per la profilassi delle mastiti |
| 12 - 1984 | 5° Congresso Nazionale Associazione Scientifica di Produzione Animale | 31 - 1991 | Allevamento delle piccole specie |
| 13 - 1984 | Il controllo delle affezioni respiratorie del cavallo | 32 - 1992 | Gestione e protezione del patrimonio faunistico |
| 14 - 1984 | 1° Simposio Internazionale di Medicina veterinaria sul cavallo da competizione | 33 - 1992 | Allevamento e malattie del visone |
| 15 - 1985 | La malattia di Aujeszky. Attualità e prospettive di profilassi nell'allevamento suino | 34 - 1993 | Atti del XIX Meeting annuale della S.I.P.A.S., e del Convegno su Malattie dismetaboliche del suino |
| 16 - 1986 | Immunologia comparata della malattia neoplastica | 35 - 1993 | Stato dell'arte delle ricerche italiane nel settore delle biotecnologie applicate alle scienze veterinarie e zootecniche - Atti 1ª conferenza nazionale |
| 17 - 1986 | 6° Congresso Nazionale Associazione Scientifica di Produzione Animale | 36 - 1993 | Argomenti di patologia veterinaria |
| 18 - 1987 | Embryo transfer oggi: problemi biologici e tecnici aperti e prospettive | 37 - 1994 | Stato dell'arte delle ricerche italiane sul settore delle biotecnologie applicate alle scienze veterinarie e zootecniche |
| 19 - 1987 | Conigliocultura: tecniche di gestione, ecompatologia e marketing | | |

- 38 - 1995 Atti del XIX corso in patologia suina e tecnica dell'allevamento
- 39 - 1995 Quale bioetica in campo animale? Le frontiere dell'ingegneria genetica
- 40 - 1996 Principi e metodi di tossicologia in vitro
- 41 - 1996 Diagnostica istologica dei tumori degli animali
- 42 - 1998 Umanesimo ed animalismo
- 43 - 1998 Atti del Convegno scientifico sulle enteropatie del coniglio
- 44 - 1998 Lezioni di citologia diagnostica veterinaria
- 45 - 2000 Metodi di analisi microbiologica degli alimenti
- 46 - 2000 Animali, terapia dell'anima
- 47 - 2001 Quarantacinquesimo della Fondazione Iniziative Zooprofilattiche e Zootecniche di Brescia, 1955-2000
- 48 - 2001 Atti III Convegno Nazionale di Storia della Medicina Veterinaria
- 49 - 2001 Tipizzare le salmonelle
- 50 - 2002 Atti della giornata di studio in cardiologia veterinaria
- 51 - 2002 La valutazione del benessere nella specie bovina
- 52 - 2003 La ipofertilità della bovina da latte
- 53 - 2003 Il benessere dei suini e delle bovine da latte: punti critici e valutazione in allevamento
- 54 - 2003 Proceedings of the 37th international congress of the ISAE
- 55 - 2004 Riproduzione e benessere in conigliocultura: recenti acquisizioni scientifiche e trasferibilità in campo
- 56 - 2004 Guida alla diagnosi necroscopica in patologia suina
- 57 - 2004 Atti del XXVII corso in patologia suina e tecnica dell'allevamento
- 58 - 2005 Piccola storia della Medicina Veterinaria raccontata dai francobolli
- 59 - 2005 IV Congresso Italiano di Storia della Medicina Veterinaria
- 60 - 2005 Atti del XXVIII corso in patologia suina e tecnica dell'allevamento
- 61 - 2006 Atlante di patologia cardiovascolare degli animali da reddito
- 62 - 2006 50° Fondazione Iniziative Zooprofilattiche e Zootecniche di Brescia, 1955-2005
- 63 - 2006 Guida alla diagnosi necroscopica in patologia del coniglio
- 64 - 2006 Atti del XXIX corso in patologia suina e tecnica dell'allevamento
- 65 - 2006 Proceedings of the 2nd International Equitation Science Symposium
- 66 - 2007 Piccola storia della Medicina Veterinaria raccontata dai francobolli - II edizione
- 67 - 2007 Il benessere degli animali da reddito: quale e come valutarlo
- 68 - 2007 Proceedings of the 6th International Veterinary Behaviour Meeting
- 69 - 2007 Atti del XXX corso in Patologia Suina
- 70 - 2007 Microbi e alimenti
- 71 - 2008 V Convegno Nazionale di Storia della Medicina Veterinaria
- 72 - 2008 Proceedings of the 9th World Rabbit Congress
- 73 - 2008 Atti Corso Introduttivo alla Medicina non Convenzionale Veterinaria
- 74 - 2009 La biosicurezza in veterinaria
- 75 - 2009 Atlante di patologia suina I
- 76 - 2009 Escherichia Coli
- 77 - 2010 Attività di mediazione con l'asino
- 78 - 2010 Allevamento animale e riflessi ambientali

- 79 - 2010 Atlante di patologia suina II
PRIMA PARTE
- 80 - 2010 Atlante di patologia suina II
SECONDA PARTE
- 81 - 2011 Esercitazioni di microbiologia
- 82 - 2011 Latte di asina
- 83 - 2011 Animali d'affezione
- 84 - 2011 La salvaguardia della biodiversità
zootecnica
- 85 - 2011 Atti I Convegno Nazionale di
Storia della Medicina Veterinaria
- 86 - 2011 Atti II Convegno Nazionale di
Storia della Medicina Veterinaria
- 87 - 2011 Atlante di patologia suina III
- 88 - 2012 Atti delle Giornate di
Coniglicoltura ASIC 2011
- 89 - 2012 Micobatteri atipici
- 90 - 2012 Esperienze di monitoraggio
sanitario della fauna selvatica in
Provincia di Brescia
- 91 - 2012 Atlante di patologia della fauna
selvatica italiana
- 92 - 2013 Thermography: current status and
advances in livestock animals and
in veterinary medicine
- 93 - 2013 Medicina veterinaria (illustrato).
Una lunga storia. Idee,
personaggi, eventi
- 94 - 2014 La medicina veterinaria unitaria
(1861-2011)
- 95 - 2014 Alimenti di origine animale e
salute
- 96 - 2014 I microrganismi, i vegetali e l'uomo
- 97 - 2015 Alle origini della vita: le alghe
- 98 - 2015 Regimen Sanitatis Salerni
- 99 - 2015 Atti del VI Congresso Nazionale
di Storia della Medicina
Veterinaria
- 100 - 2015 Equus Frenatus. Morsi dalla
Collezione Giannelli
- 101 - 2016 Lactose and gluten free: alimenti
del domani?
- 102 - 2017 I modelli animali spontanei per lo
studio della fisiologia e patologia
dell'uomo
- 103 - 2017 Atti del VII Congresso Nazionale
di Storia della Medicina
Veterinaria
- 104 - 2017 Progetto legno: biodeterioramento
e salute
- 105 - 2017 Il coniglio: storia ed evoluzione
dell'allevamento in Italia e in
Europa
- 106 - 2018 Riabilitazione equestre: relazione
e progettualità
- 107 - 2018 Leggiamo insieme. Storie di
sanità fra cronaca e scienza
- 108 - 2018 The Military Veterinary Services
of the Fighting Nations in World
War One. Historical congress
- 109 - 2019 Non erano nel menù. Storie di
cibo e altro
- 110 - 2019 250 anni dalla Fondazione della
Scuola di Veterinaria di Torino
- 111 - 2019 Microbiologia e virologia in
sintesi
- 112 - 2020 Specie acquatiche nella ricerca
scientifica - Atti del Convegno
- 113 - 2020 Associazione Italiana Storia della
Medicina Veterinaria e della
Mascalcia - Atti del I Convegno
Nazionale

Finito di stampare da

litos
l'altro lato della stampa

Litos s.r.l. - Gianico (BS)
nel mese di gennaio 2021

ISBN 978-88-97562-28-3



9 788897 562283