

Paolo Formaggioni, Massimo Malacarne, Piero Franceschi*, Andrea Summer

Impatto della chetosi sulla produzione quanti-qualitativa del latte per la caseificazione: una minireview

Impact of ketosis on the quanti-qualitative production of milk for cheese making: a minireview

Dipartimento di Scienze Medico-Veterinarie, Università degli Studi di Parma Via del Taglio 10, I-43126, Parma

*Corresponding author:

Piero Franceschi

Dipartimento di Scienze Medico-Veterinarie, Università degli Studi di Parma Via del Taglio 10, I-43126, Parma | Tel: 0521-032617 | Email: piero.franceschi@unipr.it

Ricevuto il 29 giugno 2020

Accettato il 21 luglio 2020

DOI: 10.36138/STLC.05.2020.01

Riassunto

La rassegna si propone di valutare l'influenza della chetosi sulla produzione e la qualità del latte destinato alla caseificazione. In particolare questa patologia può determinare perdite importanti sia a livello di produzione che a livello di composizione del latte: le vacche che producono più latte sono maggiormente soggette a chetosi; con la chetosi (clinica e subclinica) si ha una sensibile perdita quantitativa di latte; inoltre, il latte è di peggiore qualità perché aumenta il rapporto grasso/proteina, diminuisce il contenuto di caseina, si modifica la composizione del grasso, di-

minuisce il contenuto di calcio, fosforo e magnesio, diminuisce la resa casearia (calo stimato anche di -2,54 kg per 100 kg di latte). Una buona gestione manageriale può ridurre l'insorgenza della chetosi; l'uso della monensina non sembra esercitare alcun effetto negativo sulla caseificazione a Parmigiano Reggiano.

Parole chiave:

- Chetosi clinica e subclinica
- Produzione di latte
- Qualità e composizione del latte
- Parmigiano Reggiano

Abstract

The review aims to evaluate the influence of ketosis on the production and quality of milk destined to cheese making. In particular, this disease can cause significant losses both at the production level and at the milk composition level: cows that produce more milk are more prone to ketosis; with ketosis (clinical and subclinical) there is a significant quantitative milk loss; moreover, the milk has a worse quality because the fat/protein ratio is unbalanced, the casein content decreases, the fat composition is changed, calcium, pho-

sphorus and magnesium contents decrease, the cheese yield decreases (estimated drop is -2.54 kg per 100 kg of milk). A good management can reduce the onset of ketosis; the use of monensin does not seem to exert any negative effect on Parmigiano Reggiano cheesemaking.

Keywords

- Clinical and subclinical ketosis
- Milk production
- Milk quality and composition
- Parmigiano Reggiano cheese

INTRODUZIONE

Definizione e conseguenze della chetosi

La chetosi è un indesiderato innalzamento dei valori dei corpi chetonici nel sangue della vacca; i corpi chetonici sono acetone, acetato, β -idrossibutirrato (BHB). Si tratta di uno dei disordini metabolici più comuni nella vacca da latte.

Oltre agli aspetti sulla produzione e qualità del latte, che considereremo in questo lavoro, la chetosi può provocare:

- la morte nello 0,5% delle vacche colpite;
- l'aumento della riforma, con il 5% degli animali colpiti che vengono eliminati dalla produzione;
- l'aumento del rischio di ipofertilità e di dislocazione dell'abomaso, e della gravità e della durata delle mastiti [1].

Eziologia della chetosi

Livelli elevati di corpi chetonici circolanti si verificano ad inizio lattazione per sostenere gli alti livelli di produzione di latte, in un momento in cui l'assunzione di sostanza secca è ridotta [2,3]. All'inizio della lattazione, la vacca ha bisogno di grandi quantitativi di glucosio per sintetizzare il lattosio. L'appetito però è insufficiente per fornire tutta l'energia necessaria al suo metabolismo.

Il deficit energetico si traduce in una forte mobilitazione delle riserve lipidiche. La loro degradazione produce una grande quantità di corpi chetonici, utilizzati come fonte energetica in presenza di glucosio. Se l'organismo non dispone di glucosio, i corpi chetonici si accumulano nel sangue in concentrazioni tossiche [4].

Bisogna tenere conto del fatto, tuttavia, che i corpi chetonici rappresentano parte integrante del metabolismo dei ruminanti e forniscono un'importante forma di energia ai tessuti periferici quando i livelli di carboidrati sono ridotti [3]. Oltre a contribuire all'approvvigionamento energetico dei tessuti, il BHB viene utilizzato per la sintesi del grasso del latte [5]; di conseguenza un livello basale di corpi chetonici circolanti è normale nel ruminante.

Fattori di rischio individuali

I principali fattori di rischio individuali per l'insorgenza della chetosi sono [3,6]:

- Un punteggio della condizione corporea (BCS) $\geq 3,5$ nella fase di asciutta.
- Periodo di asciutta troppo lungo, superiore a 2 mesi.
- Perdita di BCS durante la fase di asciutta
- Gravidanza gemellare.
- Rapporto grasso: proteine del latte troppo alto, sbilanciato (maggiore di 1,5) nella lattazione precedente.

- Primo parto ad una età maggiore di 27 mesi di età: soprattutto se è di razza Frisona, la vacca non deve partorire troppo tardi, altrimenti il BCS non è adeguato e possono insorgere problemi di chetosi.
- Ordine di lattazione >3 .

Le vacche con queste caratteristiche, nelle condizioni di grande stress e sbalzi metabolici che precedono e seguono il parto, sono maggiormente soggette a sviluppare una chetosi, anche in presenza di una corretta qualità complessiva del management.

Chetosi clinica e subclinica

Come indicatore di chetosi si utilizza il livello di β -idrossibutirrato nel latte. Esso viene analizzato con facilità nei Controlli Funzionali utilizzando una tecnica spettroscopica nel medio infrarosso (MIR). Si tratta di importante strumento di screening e valutazione della prevalenza e del rischio di chetosi a livello di allevamento.

La chetosi può essere clinica o subclinica. Si tratta di chetosi clinica quando la concentrazione ematica di BHB è ≥ 3 mmol/L. Viene definita subclinica quando il livello di BHB nel sangue è 1,2-2,9 mmol/L. Nella forma clinica della chetosi si osservano disturbi dell'appetito, pigrizia, riduzione della massa corporea, della produzione di latte, e dell'attività di ruminazione. Si possono avere, inoltre, manifestazioni nervose, ipoglicemia, iperchetonemia nel sangue e iperchetonuria nelle urine. Nelle forme più gravi si può arrivare anche al collasso epatico e alla morte della bovina [2,7].

La chetosi subclinica, invece, è caratterizzata da livelli più alti di corpi chetonici circolanti, senza la presenza di sintomi clinici di chetosi [3,8]. La forma subclinica della chetosi risulta molto più diffusa di quella clinica e si manifesta con un più o meno marcato calo della produzione di latte ed una forte caduta dell'efficienza riproduttiva [3,8].

Sia la chetosi clinica che la chetosi subclinica sono state oggetto di numerose rassegne [2,7,8,9].

L'analisi del rischio di chetosi è importante proprio allo scopo di individuare le chetosi subcliniche, oltre alle più evidenti chetosi cliniche. Infatti, la chetosi subclinica si verifica più frequentemente della chetosi clinica [3], ed è causa di rilevanti perdite economiche nel lungo periodo, a causa della riduzione, come sarà descritto in seguito, sia della produzione di latte, che della qualità del latte stesso. Per questo motivo esse sono più insidiose delle chetosi cliniche: non danno sintomi e sono quindi difficili da diagnosticare, e abbassano il profitto di un allevamento di bovine da latte senza che l'allevatore ne prenda coscienza; nel frattempo, la chetosi subclinica erode i redditi dell'allevamento [3].

Soprattutto le vacche con più alte prestazioni sono maggiormente soggette a chetosi, e quindi a una maggiore perdita di latte.

Duffield [3] ha analizzato le percentuali di chetosi in funzione del Body Condition Score (BCS) prima del parto. Ha rilevato che, con un $BCS \geq 4$, aumentano in maniera molto marcata le percentuali sia di chetosi clinica (circa 6%) che di quella subclinica (circa 22%).

Prevalenza della chetosi

Kauppinen [10] ha analizzato la prevalenza della chetosi bovina in relazione al numero delle lattazioni, suddivisa tra clinica e subclinica (**Figura 1**). Si può evidenziare l'elevatissima prevalenza della chetosi (41% solo per la subclinica) sulla performance delle bovine in seconda lattazione.

Dati più recenti sulla prevalenza della chetosi in Europa e in Nord America (com. pers.), riportano cifre meno elevate:

- chetosi clinica: 4-21% dei capi;
- chetosi subclinica: 9-34% dei capi.

Questi dati inducono ad alcune riflessioni: innanzitutto, come si può notare, l'intervallo della prevalenza della chetosi subclinica è elevato, dimostrando che esiste una ampia varietà di situazioni; in secondo luogo, il limite massimo è piuttosto alto: 34% significa che il problema può interessare sino a una vacca su tre. Inoltre, se sommiamo i valori massimi delle due chetosi possiamo notare che possono essere interessate da chetosi sino al 55% delle bovine; cioè più della metà delle vacche di un allevamento possono avere problemi metabolici.

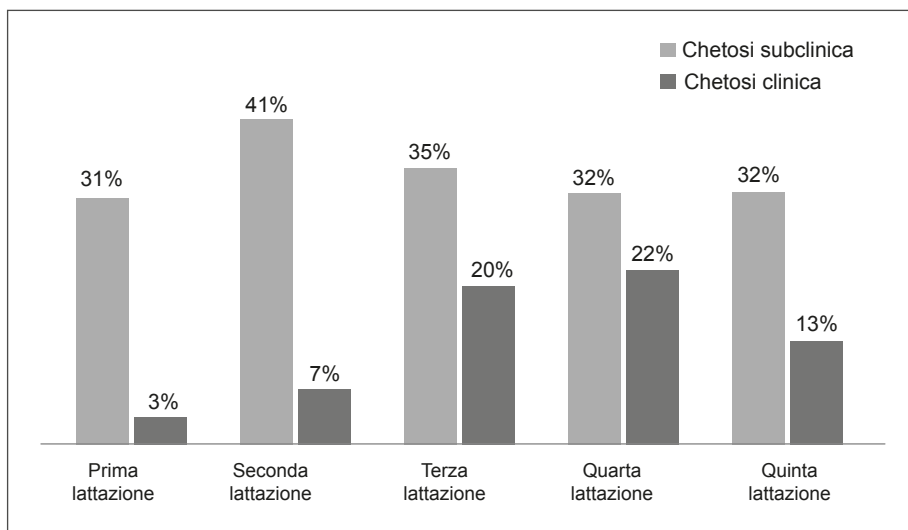


Figura 1. Prevalenza della chetosi bovina in relazione al numero delle lattazioni (Kauppinen, 1983)

Figure 1. Prevalence of bovine ketosis in relation to the parities (Kauppinen, 1983)

Un numero limitato di studi ha valutato la prevalenza di chetosi subclinica in stalle italiane e due recenti lavori [11,12] riportano una prevalenza del 36,6% e del 32%, rispettivamente per il primo e il secondo studio, in linea con quanto riportato precedentemente.

La prevalenza della chetosi si può ridurre con una maggiore attenzione della gestione manageriale della mandria, in particolare nella fase di transizione, garantendo un elevato benessere animale, una alimentazione corretta, e monitorando puntualmente il punteggio del BCS.

EFFETTO DELLA CHETOSI SULLA PRODUZIONE DI LATTE

Numerosi lavori si sono occupati degli effetti della chetosi sulla produzione di latte. Raffrontando le curve di lattazione stimate per bovine trattate per chetosi clinica e non trattate, diversi studi mostrano un evidente calo della produzione di latte, la cui entità dipende anche dal numero di lattazioni dell'animale. Il dato, tuttavia, è spesso difficilmente stimabile con esattezza, dato che la patologia colpisce di preferenza le vacche più produttive, che fanno comunque molto latte, e per questo la chetosi può in parte passare inosservata. Il latte in ogni caso diminuisce e c'è un effetto a lungo termine su tutta la lattazione.

Già nel 1986, Lucey et al. [13] hanno osservato differenze significative nella produzione di latte tra una settimana prima e una settimana dopo la diagnosi clinica della chetosi (-5,1 kg/giorno,

$P < 0,001$). Le perdite totali nella produzione di latte associate alla chetosi sono state stimate in 60-70 kg. Gli autori suggerivano che qualora fosse disponibile la registrazione automatica giornaliera del latte, l'allevatore potrebbe rilevare deviazioni dalla norma e quindi individuare la chetosi subclinica anche 2 settimane prima della comparsa dei sintomi clinici.

Deluyker et al. [14] hanno dimostrato che a seconda del momento della diagnosi cambia la perdita di latte. Infatti se la diagnosi veniva effettuata nei primi 21 giorni, la perdita di latte era di 253,4 kg nei primi 119 giorni di lattazione; se invece la diagnosi veniva effettuata tra il 22° e il 49° giorno, la perdita di latte complessiva era maggiore, ovvero di

260,1 kg nello stesso periodo di lattazione considerato; infine, se la diagnosi veniva effettuata tra il 50° e il 119° giorno, la perdita complessiva nei 119 giorni diventava di 336,8 kg.

Detilleux et al. [15] hanno osservato che le curve di lattazione delle vacche con chetosi, rispetto a quelle delle vacche non chetotiche, hanno mostrato una marcata diminuzione ad inizio lattazione; la perdita stimata, dopo 17 giorni dalla diagnosi, era di 44,3 kg. Gli autori hanno inoltre rilevato che la perdita di produzione è direttamente proporzionale all'ordine di parto: in vacche primipare hanno registrato una perdita di 34 kg di latte, mentre in secondipare la perdita aumentava a 44,5 kg, per diventare 47,1 e 52,6 kg per vacche al terzo e al quarto parto, rispettivamente.

La perdita di latte è tanto minore quanto prima viene effettuata la diagnosi di chetosi; infatti il trattamento della chetosi porta a contenere le perdite della produzione di latte. Tuttavia, gli autori rilevano che la produzione di latte complessiva dei 305 giorni di lattazione delle vacche con diagnosi di chetosi è stata stimata essere di 141,1 kg superiore a quella delle vacche prive di chetosi. Quindi, sebbene la chetosi venga associata ad una perdita di latte, le vacche del gruppo sperimentale (cioè quelle affette da chetosi) hanno prodotto più latte durante l'intera lattazione rispetto alle vacche sane del gruppo di controllo. Tuttavia, se quelle vacche, che erano caratterizzate da un maggiore rendimento, non avessero avuto la chetosi, le loro produzioni di latte sarebbero state considerevolmente maggiori. Le vacche più produttive sono quelle maggiormente soggette alla chetosi. Tuttavia, i costi per le cure veterinarie atte a contrastare la chetosi subclinica sono senz'altro compensati dalla maggiore produzione di latte durante la lattazione, dalla riduzione di altri problemi correlati alla chetosi stessa (ad esempio quelli di tipo riproduttivo) e, come si vedrà nel Capitolo 3 di questa rassegna anche da un miglioramento della qualità stessa del latte prodotto. Gli autori esortano quindi gli allevatori a gestire opportunamente il management aziendale, in particolare modo prendendosi cura delle vacche ad alto rendimento, per fare in modo che siano meno sensibili alla chetosi.

Anche Rajala-Schultz et al. [16] hanno rilevato che la chetosi ha avuto un significativo effetto negativo sulla produzione di latte. L'effetto di riduzione del latte è iniziato anche prima della diagnosi

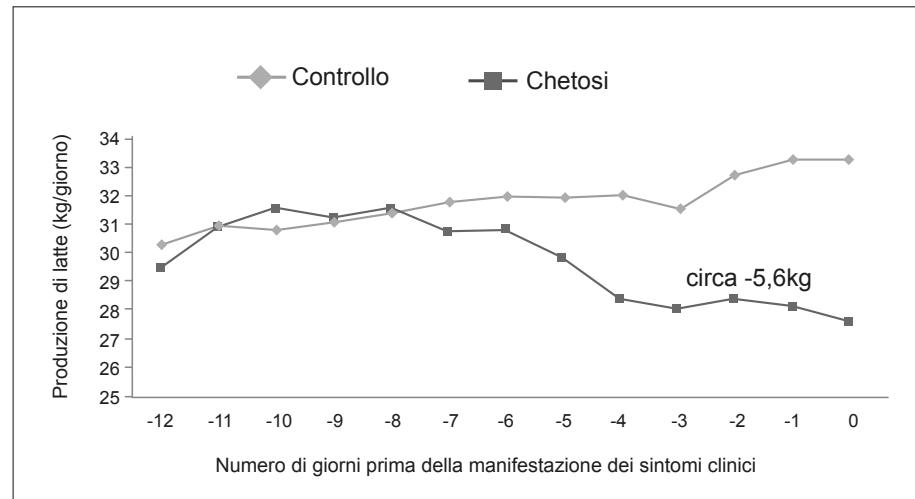


Figura 2. Calo della produzione di latte in vacche con chetosi rispetto a vacche sane nei 12 giorni precedenti l'insorgenza dei sintomi clinici della chetosi (Antanaitis et al., 2015)

Figure 2. Decrease of milk production in cows with ketosis compared to healthy cows in the 12 days prior to the onset of clinical symptoms of ketosis (Antanaitis et al., 2015)

di chetosi clinica. La perdita di latte è continuata per almeno 2 settimane dopo la diagnosi e la perdita complessiva durante l'intera lattazione, ad esempio, per le primipare e per le pluripare (numero parti ≥ 4) è stata rispettivamente di 126,0 e 535,4 kg. In entrambi questi gruppi di ordine di parto, l'effetto di riduzione del latte è iniziato 4 settimane prima della diagnosi. La perdita giornaliera di latte è risultata maggiore entro le prime 2 settimane dopo la diagnosi, rispettivamente di 3,0, 4,0, 3,3 e 5,3 kg/giorno per primipare, secondipare, terzipare e pluripare, rispettivamente.

Kocak et al. [17] hanno mostrato che le perdite di latte sono state osservate una settimana prima della diagnosi di chetosi. È stato stabilito che la perdita di latte più elevata veniva registrata nella settimana della diagnosi, e che le perdite di latte nella settimana di diagnosi per le vacche affette da chetosi erano di 6,21 kg/d. Le perdite di produzione di latte per l'intera lattazione, nella vacche affette da chetosi, erano di 285,6 kg. Gli autori concludono che le perdite di latte che si verificano prima della diagnosi di chetosi hanno mostrato la necessità porre una elevata attenzione ai metodi diagnostici. Inoltre, per effettuare una diagnosi precoce, deve essere attentamente osservata la riduzione della produzione di latte.

Ospina et al. [18] hanno valutato la perdita di latte corrispondente a 305 giorni di lattazione:

- nel caso di almeno il 20% di primipare con valori di BHB nel sangue ≥ 12 mg/dL si sono registrati 534 kg di latte in meno;
- nel caso di almeno il 15% di pluripare con valori di BHB nel sangue ≥ 10 mg/dL si sono registrati 358 kg di latte in meno.

Colombini e Crovetto [19] hanno riscontrato che la produzione risultava inferiore per le bovine con un contenuto nel latte di BHB > 0,12 rispetto a quelle con BHB < 0,12 mmol/L. In particolare, nei primi 30 giorni di lattazione la perdita stimata di latte era di circa -0,9 L per mungitura (-5% circa).

Antanaitis et al. [20], come si può osservare in **Figura 2**, hanno dimostrato che nelle vacche affette da chetosi la produzione di latte ha mostrato una tendenza ad una significativa diminuzione già 8 giorni prima dei sintomi clinici, sino ad arrivare a -5,6 kg di latte al giorno il giorno della comparsa dei sintomi.

Gantner et al. [21] hanno rilevato una diminuzione della produzione di latte fino a 35 giorni dopo la diagnosi della chetosi subclinica. Tale perdita risultava differente a seconda dell'ordine di parto e la si può quantificare, mediamente, in 4,21 kg/d per le primipare, 2,73 per le secondipare, 2,83 per le terzipare e 3,72 kg/d per le vacche dalla quarta lattazione in poi.

Anche i risultati del recente lavoro di Benedet et al. [22] suggeriscono che la chetosi influisce negativamente sulla produzione di latte soprattutto ad inizio lattazione. In particolare, in questo lavoro, la differenza tra il gruppo delle vacche affette da chetosi e quello di controllo risultava essere di 3,1 kg/d.

Volendo effettuare un confronto di sintesi tra questi diversi lavori, possiamo osservare che le perdite maggiori nella produzione di latte si verificano al momento della diagnosi o nel periodo immediatamente successivo. Tali perdite possono essere anche molto cospicue, dell'ordine di 5-6 kg/d [13,17,20]; Rajala Schultz et al. [16] rilevano tuttavia valori più bassi (3-4 kg/d) per le vacche con basso ordine di parto, mentre registrano una perdita di circa 5 kg/d solo per vacche con più di tre parti.

Se si analizzano criticamente i dati relativi all'intera lattazione, si può evidenziare che, in alcuni casi [15] si registra addirittura un incremento della produzione di latte; evidentemente, anche negli altri casi si ha una lieve ripresa, dovuta alle cure veterinarie, perché la perdita di latte media giornaliera per l'intera lattazione (o per il periodo considerato, talvolta minore dell'intera lattazione) risulta più bassa di quella registrata al momento della diagnosi o nel periodo immediatamente seguente: 2-3 kg/d per 119 giorni di lattazione [14]; lo stesso valore di 2-3 kg/d viene registrato da Detilleux et al. [15] per un periodo di 17 giorni dopo la diagnosi. Valori di perdita sensibilmente minori vengono invece registrati da Rajala-Schultz et al. [16] nell'intera lattazione, assumendo come intera lattazione un intervallo di 305 giorni: 0,4 kg/d per le primipare e 1,8 kg/d per le pluripare; questi autori, del resto, come detto sopra, registravano una minore perdita anche nelle prime settimane dopo la diagnosi. Valori simili a questi (0,9 kg/d) sono registrati nel lavoro di Kocak et al. [17] per le 44 settimane di lattazione considerate.

3. EFFETTO DELLA CHETOSI SULLA QUALITÀ DEL LATTE

Influenza della chetosi sui contenuti di grasso e di proteina del latte

Vanholder et al. [6] mettono in relazione la chetosi con l'aumento del contenuto di grasso, la diminuzione del contenuto di proteina ed una conseguente alterazione del rapporto grasso/proteina.

Gli obiettivi della ricerca di questi autori erano: 1) determinare i fattori di rischio per la chetosi subclinica da 7 a 14 d di lattazione e 2) valutare l'associazione di chetosi subclinica e clinica con i parametri di produzione. La ricerca ha coinvolto 23 allevamenti situati nei Paesi Bassi, dal 2009 al 2010. Nel complesso, 1.715 vacche sono state sottoposte a screening per la chetosi: complessivamente, il 47,2% delle vacche era affetto da chetosi subclinica e l'11,6% da chetosi clinica.

Con riferimento precipuo alla qualità del latte, Vanholder et al. [6] dimostrano che essa, in termini di contenuto complessivo di grasso e proteina, diminuisce passando da un latte prodotto da bovine sane a un latte di vacche affette da chetosi subclinica e poi a un latte di vacche affette da chetosi clinica. In particolare la percentuale di proteina diminuisce (3,39 vs 3,29 vs 3,17, rispettivamente), quella di grasso aumenta (4,22 vs 4,32 vs 4,53), sbilanciando il rapporto grasso/proteina, che aumenta (1,24 vs 1,31 vs 1,43) (**Figura 3**). È noto che questo parametro non deve mai essere troppo alto, in particolare non deve superare il valore di 1,4.

Altri studi sugli effetti della chetosi sulla composizione del latte

I risultati di Vanholder et al. [6] confermano quanto registrato da Duffield [3], ovvero che i contenuti di grasso e di proteina del latte sono significativamente alterati nell'iperchetonemia. Il contenuto di grasso del latte risulta aumentato nelle vacche con chetosi subclinica [23,24] e nelle vacche con chetosi clinica [25]. Duffield [3] riporta anche che il contenuto di proteina del latte risulta inferiore nelle vacche con chetosi subclinica [23,24].

Più recentemente, Colombini e Crovetto [19] hanno preso in considerazione la qualità del latte in relazione al rischio aziendale di chetosi nei primi 20 giorni di lattazione e nei primi 40 giorni di lattazione. Un allevamento è stato definito positivo per il "rischio di chetosi" quando almeno il 15% di bovine ha una concentrazione di BHB > 0,12 mmol/L. Gli autori hanno osservato che, sia a 20 che a 40 giorni di lattazione, il gruppo di allevamenti con rischio di chetosi (rispetto a quello dove non sussisteva tale rischio) presentava un contenuto significativamente ($P < 0,001$) maggiore di grasso, di urea ed un maggiore rapporto grasso/proteina, mentre risultava inferiore il contenuto di lattosio. In nessuno dei due casi, il contenu-

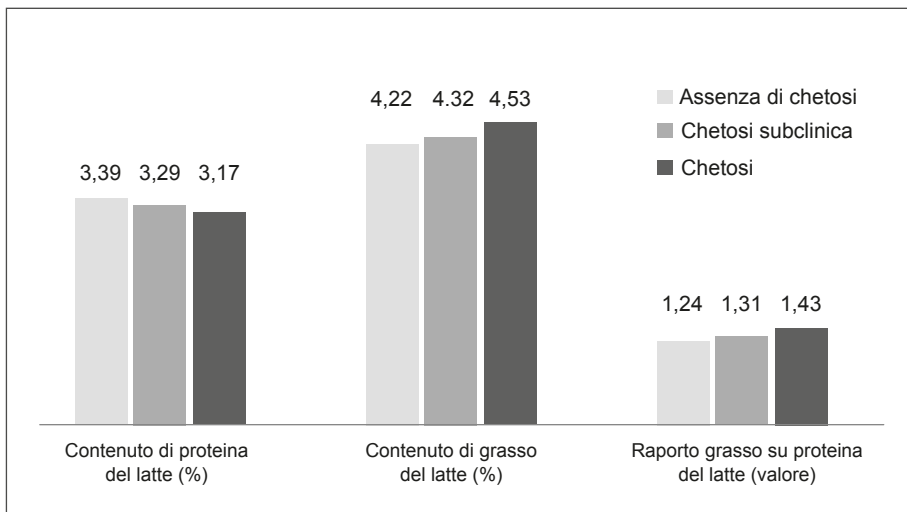


Figura 3. Variazioni dei contenuti di proteina e grasso e del valore del rapporto grasso su proteina del latte di vacche senza chetosi, con chetosi subclinica e con chetosi (Vanholder et al., 2015)

Figure 3. Variations of protein and fat content and of the fat/protein ratio of cows without ketosis, with subclinical ketosis and with ketosis (Vanholder et al., 2015)

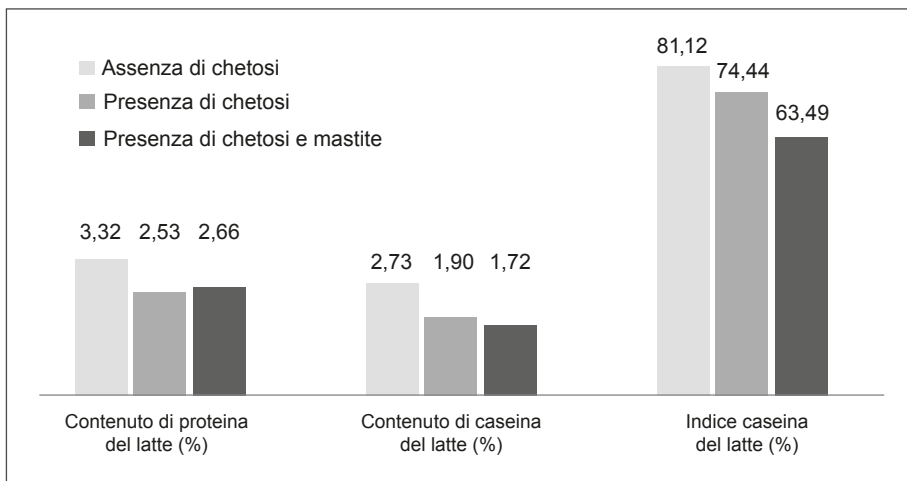


Figura 4. Variazioni dei contenuti di proteina e caseina e del valore dell'indice di caseina del latte di vacche senza chetosi, con chetosi e con chetosi e mastite (Palich et al., 1984a)

Figure 4. Variations of protein and casein contents and of the casein index of the milk of cows without ketosis, with ketosis and with ketosis and mastitis (Palich et al., 1984a)

to di proteina risultava statisticamente diverso tra i due gruppi. Fouz et al. [26] hanno analizzato i cambiamenti della composizione del latte in funzione del livello di BHB. Gli autori hanno riscontrato differenze significative solo per il grasso e solo nel primo mese di lattazione: sono stati osservati contenuti di grasso del 4,8% per le vacche con BHB ≥ 10 mM e 4,15% per gli animali con livelli di BHB

<10mM. In questa ricerca non sono state osservate differenze significative né per il contenuto di grasso nel secondo mese di lattazione né per il contenuto di proteina nei primi due mesi. I risultati dello studio di Benedet et al. [22] indicano chiaramente che la chetosi influisce negativamente sulle caratteristiche di qualità del latte, soprattutto ad inizio lattazione (primi 60 giorni). In questa ricerca, le vacche affette da chetosi hanno mostrato percentuali più alte di grasso (4,69% vs 3,79%) e di cellule somatiche e più basse di proteina, caseina e lattosio rispetto agli animali sani. Per quanto riguarda l'aumento delle cellule somatiche, Raboisson et al. [27] hanno riportato, per le vacche affette da chetosi, una probabilità del 59% per il verificarsi di un raddoppio delle cellule somatiche e del 62% per l'insorgenza della mastite clinica. Infine, in uno studio recente, Yang et al. [28] hanno osservato che, rispetto alle vacche sane, le vacche chetotiche presentavano concentrazioni significativamente più elevate di grasso e citrato nel latte, ma livelli più bassi di proteina e lattosio. Il livello di citrato nel latte nelle vacche affette da chetosi variava da 8,75 a 15,89 mmol/L (in media 11,45 mmol/L), mentre il livello di citrato nel latte nelle vacche sane era compreso tra 6,41 e 11,40 mmol/L (in media 8,63 mmol/L). Il citrato nel latte è un marker del metabolismo mitocondriale nella ghiandola mammaria e induce il sistema di trasporto del citrato ferrico, dove compete con la lattoferrina per il ferro. Come osservano numerosi autori [3,22,29], l'associazione tra grasso nel latte e iperchetonemia è principalmente dovuta all'aumento della disponibilità di acidi grassi e corpi chetonici per la sintesi del grasso del latte. La riduzione delle proteine è il risultato di una riduzione dell'approvvigionamento energetico della bovina, poiché la percentuale di proteine del latte è correlata positivamente al bilancio energetico netto [3,29,30].

Effetto della chetosi sul contenuto di proteina, caseina e sull'indice di caseina

L'obiettivo della ricerca di Palich et al. [31] è stato quello di evidenziare gli effetti della chetosi e della chetosi sommata alla mastite, sulla qualità del latte. Gli autori hanno condotto lo studio, durante i primi 248 giorni di lattazione, su 3 gruppi di 10 vacche ciascuno; effettivamente, si trattava di un campione sperimentale non molto cospicuo. Il primo gruppo, di controllo, era costituito da vacche sane, il secondo da vacche affette da chetosi, il terzo da vacche affette da chetosi e da mastite (>500000 cellule/mL di latte).

I principali effetti significativi riscontrati da Palich et al. [31] sulla composizione e qualità del latte sono mostrati in **Figura 4** e sono i seguenti:

- un calo molto marcato del contenuto di proteina tra il gruppo di vacche sane (3,32%) e quello delle vacche affette da chetosi (2,53%);
- un forte calo in particolare della caseina, da 2,73% a 1,90%;
- un calo dell'indice di caseina, dunque un sensibile calo della resa in formaggio, come sarà esplicitato in seguito.

L'indice di caseina, ovvero la percentuale di caseina sulla proteina totale, risulta quindi un dato di primaria importanza, perché può essere assunto come indice della qualità del latte per la caseificazione. Esso, inoltre, è una informazione disponibile per l'allevatore: è possibile determinare entrambi questi parametri mediante Spettrofotometria FT-IR, metodica analitica veloce comunemente utilizzata per l'analisi del latte [32].

Gli autori, come già ricordato, hanno considerato anche un terzo gruppo di altre 10 vacche, affette sia da chetosi che da mastite; in questo gruppo, gli effetti delle due patologie vengono a sommarsi, come si può riscontrare nella terza parte della Figura 4. La proteina è più alta rispetto al gruppo con solo chetosi (ma comunque più bassa rispetto a quello delle vacche sane): è noto infatti che la mastite può essere accompagnata da un aumento della proteina totale, a causa dell'aumento delle sieroproteine di origine ematica [33]. Il contenuto di caseina, rispetto al gruppo delle vacche affette solo da chetosi, è invece ancora più basso, per il sommarsi degli effetti delle due patologie. Entrambe le patologie infatti causano una diminuzione sia del contenuto di caseina del latte che della sua percentuale relativa (indice di caseina) rispetto alla proteina grezza.

Chetosi e resa in formaggio

È noto che i più importanti parametri che influenzano la resa siano la caseina e il grasso del latte [34], ed è noto come quest'ultimo venga trattenuto nel coagulo dalle maglie costituite dalle micelle di caseina, quindi in misura maggiore quanto più elevato è il contenuto di casei-

na. E quindi il contenuto di caseina è strettamente legato alla resa in formaggio. La chetosi, quindi, che comporta, come abbiamo descritto, una diminuzione della caseina e dell'indice di caseina, determina, di conseguenza, una diminuzione della resa in formaggio.

Supponiamo che con il latte dei dati riportati da Palich et al. [31], tenendo costante il contenuto di grasso, si producesse Parmigiano Reggiano; applicando una formula di previsione della resa che si avvale dei contenuti di grasso e di caseina del latte [34], si potrebbe prevedere una diminuzione di resa da 8,87% a 6,33%, ovvero 2,54 kg di formaggi persi ogni 100 kg di latte. Ovvero, su una caldaia da 10 quintali di latte, si tratta di 25 kg di formaggio al giorno in meno prodotti.

Un calo della resa comporta quindi, di conseguenza, una diminuzione della remunerazione dell'allevatore. Si può stimare che l'impatto economico di questa diminuzione della resa a causa della chetosi possa essere molto importante: se, ad esempio, consideriamo la produzione annuale di un caseificio da 10 caldaie, ed ipotizziamo per il Parmigiano Reggiano un prezzo di 8 euro/kg, la perdita economica per il caseificio a causa della chetosi è pari a 92.710 kg di formaggio x 8 euro, ovvero è superiore a 740 mila euro all'anno.

Rapporti tra chetosi e composizione in acidi grassi del latte

Un secondo lavoro di Palich et al. [35] riporta i risultati relativi alla composizione del grasso in acidi grassi. In caso di chetosi, anche il profilo in acidi grassi risulta profondamente mutato: gli acidi grassi a corta catena diminuiscono (17,88% vs 12,23%; vacche sane vs vacche con chetosi), quelli a media catena diminuiscono (55,32% vs 46,59%), mentre aumentano quelli a lunga catena (28,78% vs 44,15%). Inoltre, gli acidi grassi saturi diminuiscono (76,04% vs 50,31%), mentre aumentano quelli insaturi (25,94% vs 35,90%).

Anche Dieguez et al. [29] rilevano che la presenza di chetosi risulta correlata alle modifiche del profilo degli acidi grassi nel latte, con una tendenza a ridurre la percentuale di acidi grassi a catena media e ad aumentare quella degli acidi grassi a catena lunga come l'acido oleico; si tratta di uno degli acidi grassi predominanti negli adipociti che, in caso di bilancio energetico negativo, viene significativamente rilasciato durante la lipolisi. In generale, in queste situazioni, viene derivata nel flusso sanguigno, e incorporata nel grasso del latte, una maggiore quantità di acidi grassi a catena lunga, il che a sua volta contribuirebbe a inibire la sintesi di acidi grassi a catena corta e media da parte della ghiandola mammaria.

Non sono stati fatti lavori sulla possibile influenza della chetosi sull'affioramento del grasso; una ricerca di questo tipo potrebbe essere piuttosto interessante, soprattutto per la produzione di formaggi a latte parzialmente scremato come Parmigiano Reggiano e Grana Padano, dove l'affioramento del grasso gioca un ruolo fondamentale.

Rapporti tra chetosi e contenuto minerale del latte

Nello stesso lavoro in cui riportano la composizione chimica di base del latte, Palich et al. [31] analizzano gli effetti della chetosi sulla componente minerale. Anche la componente minerale del latte è negativamente influenzata dalla chetosi: come mostra la **Figura 5**, nel latte diminuiscono il calcio, il fosforo e il magnesio; aumentano invece i contenuti di sodio e di potassio.

Ricordiamo il ruolo fondamentale che calcio, fosforo e magnesio svolgono nella struttura delle micelle di caseina, che sono tenute insieme da ponti di fosfato di calcio colloidale, contenente anche una piccola percentuale di magnesio. Una corretta mineralizzazione della micella è fondamentale per una buona coagulazione presamica [36]. Inoltre, nel processo di coagulazione, dopo l'azione di taglio della caseina da parte del caglio, la seconda fase di aggregazione delle micelle necessita di calcio ionico, che fa da ponte fra le diverse micelle di paracaseina generando il coagulo.

Una diminuzione di calcio, fosforo e magnesio, sia nella forma colloidale che in quella solubile, genera un conseguente peggioramento dell'attitudine del latte alla caseificazione. In particolare Malacarne et al. [36] hanno suggerito che la quantità di fosforo, calcio e magnesio allo stato colloidale e il numero di gruppi fosfato all'interno della micella della caseina abbiano una marcata influenza sul comportamento del latte durante la coagulazione presamica. Tuttavia anche il contenuto di calcio solubile è molto importante per la formazione della cagliata nella fase secondaria (aggregazione delle micelle) della coagulazione presamica.

Tenendo conto dei risultati di Palich et al. [31] sulla diminuzione del contenuto di calcio, fosforo e magnesio, si potrebbe ipotizzare un peggioramento dell'acidità titolabile e dell'attitudine alla coagulazione del latte, data l'influenza che tali minerali esercitano su questi parametri [36,37]. Purtroppo non sono presenti in letteratura lavori che mettano in relazione la chetosi clinica e subclinica con questi aspetti che, insieme alla caseina, rappresentano i fattori chiave della produzione casearia [37].

LA MONENSINA E I SUOI EFFETTI SULLA PRODUZIONE E SULLA QUALITÀ DEL PARMIGIANO REGGIANO

La monensina

Al fine di scongiurare l'insorgenza di chetosi, come abbiamo già sottolineato più volte, è quindi molto importante la prevenzione e una attenzione particolare alla gestione dell'allevamento, in modo speciale per vacche pluripare e ad alta produzione, e soprattutto nella fase di transizione.

Tuttavia, è possibile affiancare ad un corretto management anche strumenti veterinari mirati, in grado di ridurre drasticamente il rischio chetosi. In particolare, si sta diffondendo l'utilizzo della monensina, data la sua efficacia nel contrastare la chetosi; pertanto è importante valutare attentamente i suoi possibili effetti negativi sulla produzione dei formaggi, in particolare in quelli DOP a latte crudo e che non fanno uso di starter di laboratorio.

La monensina è un farmaco polietere isolato dal batterio *Streptomyces cinnamonensis*. Si tratta di un ionoforo con una preferenza a formare complessi con cationi monovalenti come: Li^+ , Na^+ , K^+ , Rb^+ , Ag^+ e Ti^+ . È in grado di trasportare questi cationi attraverso le membrane lipidiche delle cellule in uno scambio elettroneutrale (cioè non depolarizzante), svolgendo un ruolo importante come scambiatore Na^+/H^+ . Questo è il meccanismo d'azione per la riduzione dell'incidenza della chetosi clinica e subclinica: agisce sulla popolazione batterica ruminale modificando i rapporti tra le diverse specie di batteri. Altera il flusso di ioni monovalenti attraverso la membrana dei batteri gram-positivi, modificandone il normale funzionamento e causandone la lisi. I batteri gram-negativi hanno una parete differente e subiscono solo marginalmente l'effetto degli ionofori. Si crea quindi un'alterazione del rapporto gram-positivi/gram-negativi nettamente a favore di quest'ultimi. In questo modo, i batteri produttori di acido propionico (gram-negativi) prenderanno il sopravvento sui produttori di acido acetico e butirrico (gram-positivi). L'aumentata disponibilità di acido propionico (precursore del glucosio) è determinante in quanto favorisce una scorta glicemica e impedisce il depauperamento degli altri precursori del glucosio (ad es. l'ossalacetato), assicurando il mantenimento di un bilancio energetico positivo ed il corretto funzionamento delle diverse vie metaboliche (ciclo di Krebs etc.).

La monensina è un farmaco che è stato utilizzato da decenni in campo veterinario per altri scopi (ad es. prevenire la coccidiosi, prevenire il gonfiore di stomaco); è quindi attestata da tempo la sua innocuità per le bovine e per l'uomo. Dal 2013 la disponibilità di questo principio attivo per la bovina da latte come specialità veterinaria ne aumenta enormemente le garanzie di sicurezza, sia per i rigidi controlli dell'Agenzia Europea del Farmaco sugli studi di registrazione, sia per la necessaria prescrizione medico veterinaria [38]. A questo si aggiunge che non è inserita nel gruppo degli antibiotici; infatti ha sempre dimostrato un elevato profilo di sicurezza riguardo allo sviluppo di resistenze in umana. Per quel che riguarda i dati di sicurezza della monensina per la filiera lattiero-casearia, già noti ed inclusi nel dossier di registrazione, è noto che la MIC (minima concentrazione inibente) relativa al microrganismo più sensibile, il *Lactobacillus acidophilus*, è pari a 1000 ppb. Di contro,

il quantitativo di monensina presente nel latte è difficilmente stimabile, dato che il LOQ (limite di quantificazione) dell'esame più accurato in HPLC è pari a 0,45 ppb ed il quantitativo di monensina è inferiore a questa soglia [38].

La monensina nella produzione del Parmigiano Reggiano

Poiché il Parmigiano Reggiano è un formaggio a latte crudo DOP (Denominazione di Origine Protetta), nella sua produzione i mangimi, gli additivi per mangimi e i trattamenti per le vacche sono rigorosamente regolati, o dal Consorzio stesso o dalle Istituzioni competenti, per evitare ogni possibile interferenza con i processi di produzione tradizionali. Per questo è importante valutare attentamente se la monensina può avere potenziali effetti negativi o inibitori nella caseificazione a Parmigiano Reggiano. Non molti sono i contributi sperimentali che hanno investigato questo aspetto; Piccioli-Cappelli et al. [39], nel 1996 e Mezzetti et al. [40] nel 2019 hanno preso in esame questa tematica concentrandosi maggiormente sugli effetti sul latte e sulle sue proprietà di coagulazione; Mammi et al. [41] hanno invece considerato anche gli effetti direttamente sul formaggio Parmigiano Reggiano. In seguito vengono descritti questi tre contributi.

Piccioli-Cappelli et al. [39] hanno investigato gli effetti della supplementazione delle bovine con monensina sulle caratteristiche produttive delle bovine da latte, con particolare riferimento a produzione e qualità del latte e proprietà di coagulazione. Il latte era destinato alla produzione di formaggi duri e a lunga maturazione, come Parmigiano Reggiano e Grana Padano. Nella razione del gruppo sperimentale sono stati aggiunti 150 mg/capo/d di monensina per 7 giorni, poi aumentati a 300 mg/capo/d per altri 28 giorni. All'interno dei gruppi sperimentale e di controllo sono state individuate per la sperimentazione 20 bovine (10 per ciascun gruppo) scelte a 60-80 giorni di lattazione. La produzione di latte è risultata significativamente più elevata (+2 kg/d; $P < 0,01$) per il gruppo trattato con monensina rispetto al gruppo di controllo. Il contenuto di grasso risultava significativamente più basso (3,66 vs 3,94%; $P < 0,05$). Il contenuto medio di proteina, invece, per le bovine trattate è risultato leggermente più elevato durante le 5 settimane di supplementazione (3,24 vs 3,18%; $P < 0,065$), ma in modo non significativo. Durante tale periodo, l'acidità titolabile è risultata non significativamente diversa nei due gruppi (3,56 vs 3,52 °SH/50mL; n.s., rispettivamente per i gruppi trattato e di controllo). Nel gruppo sperimentale delle bovine trattate, si è potuto notare un miglioramento delle proprietà di coagulazione del latte: oltre ad una tendenza (non significativa) ad una riduzione del tempo di coagulazione ($r = 18,41$ vs $19,33$ min; n.s.), si è registrata una significativa di-

minuzione del tempo di rassodamento del coagulo ($k_{20} = 12,87$ vs $14,96$ min; $P < 0,05$) ed una più elevata consistenza del coagulo ($a_{30} = 24,06$ vs $17,54$ mm; $P < 0,01$). Inoltre, durante il periodo di supplementazione con monensina, il latte delle bovine trattate è risultato migliore anche come substrato per lo sviluppo dei lattobacilli, mostrando una velocità media di acidificazione maggiore (2,53 vs 2,03 °SH/50mL/3h; $P < 0,01$).

L'obiettivo dello studio di Mammi et al. [41] è stato quello di determinare l'influenza del trattamento preventivo intra-uminale con capsula a rilascio controllato di monensina, utilizzato per ridurre l'incidenza della chetosi nelle vacche da latte, sulla qualità del latte, del sieroinnesto naturale e del formaggio Parmigiano Reggiano. La ricerca è durata complessivamente 20 settimane di sperimentazione e ha avuto luogo in un allevamento in cui tutto il latte veniva utilizzato per la produzione di formaggio Parmigiano Reggiano. La monensina è stata somministrata a 33 vacche, 21 giorni prima del parto, nel gruppo trattato con monensina (TRT); mentre le vacche non trattate, con caratteristiche simili di razza e numero di parti, rappresentavano il gruppo di controllo (CTR), costituito da 50 bovine. L'effetto della monensina durava fino a 75 giorni di lattazione, ovvero 95 giorni dalla somministrazione. Un particolare importante: durante la prova si è arrivati ad avere fino all'80% di animali sotto trattamento contemporaneamente nel gruppo sperimentale. Si tratta di una situazione estrema, mai riproducibile in stalla: normalmente, infatti, non si supera la soglia del 20-25% di soggetti trattati contemporaneamente all'interno della mandria in lattazione. Produzione del latte in allevamento, trasporto del latte al caseificio, vasconi di affioramento, sieroinnesto utilizzato (e relativa produzione e fermentazione) e caldaie di caseificazione erano completamente distinti tra i due gruppi (TRT e CTR) e non vi era alcuna sovrapposizione; dalle caldaie sono state prodotte 2 forme di Parmigiano Reggiano (45 kg ciascuna) ogni giorno per ciascun gruppo, per un totale di 552 forme (276+276).

La quantità di latte prodotta, probabilmente anche grazie all'effetto antichetotico della monensina, si è confermata maggiore per il gruppo trattato rispetto al gruppo controllo di circa 7 kg/giorno (38.50 TRT vs 31.37 CTR; kg/giorno). Il latte ha mantenuto la stessa qualità in entrambi i gruppi con poche differenze significative. In particolare la quantità di caseina e grasso prodotta (kg/capo/giorno) è risultata maggiore ($P < 0,01$) per il gruppo trattato, grazie anche alla maggiore produzione di latte. Per la caseina: TRT = 0,92 vs CTR = 0,80; kg/capo/giorno. Per il grasso: TRT = 1,29 vs CTR = 1,09; kg/capo/giorno. Anche il contenuto di cellule somatiche è risultato migliore, ovvero significativamente più basso ($P < 0,01$), per il gruppo trattato, rispetto al gruppo di controllo: TRT = 135,3 vs

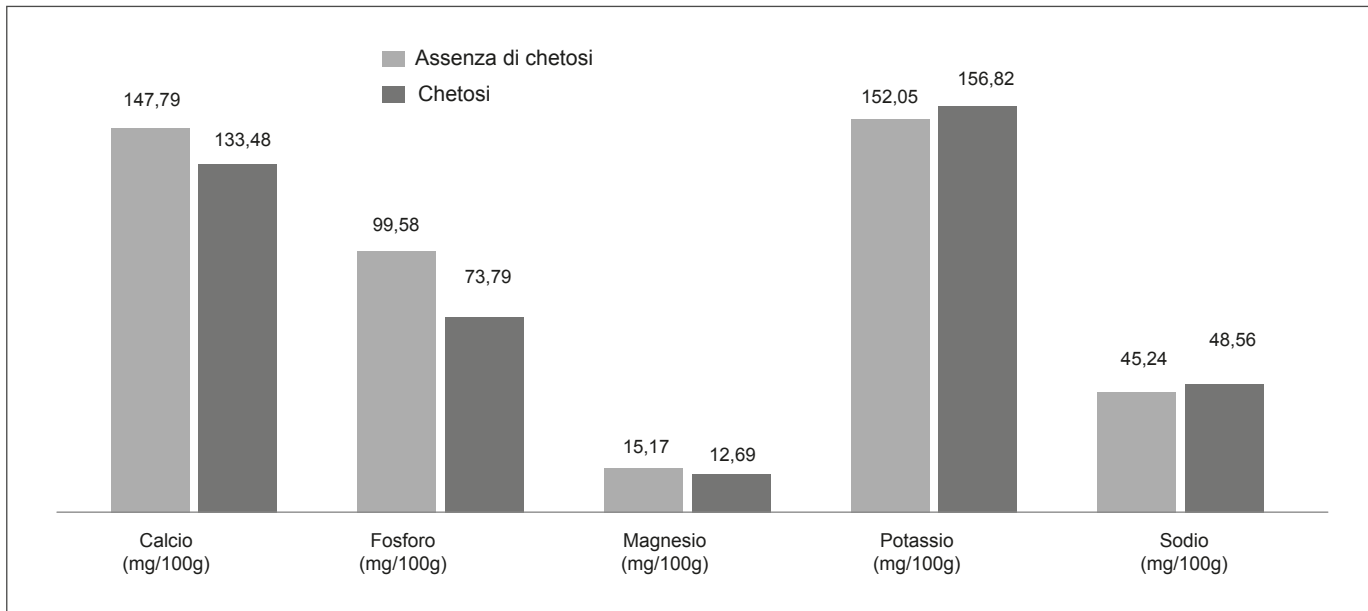


Figura 5. Differenze tra i contenuti di calcio, fosforo, magnesio, potassio e sodio del latte di vacche senza chetosi e con chetosi (Palich et al., 1984a)

Figure 5. Differences between calcium, phosphorus, magnesium, potassium and sodium contents of milk from cows without ketosis and with ketosis (Palich et al., 1984a)

CTR = 214,8; *1000 cell/mL). Anche per quanto concerne il sieroinnesto, sono state riscontrate qualità e attività comparabili tra i due gruppi sperimentali.

Per quanto riguarda la resa in formaggio ottenuta nella ricerca di Mammi et al. [41], in un nostro precedente lavoro [42] abbiamo descritto come essa risultasse più bassa per il gruppo trattato sia a 36 ore (TRT = 8,6 vs CTR = 8,9%, $P < 0,05$) sia a 18 mesi di stagionatura (TRT = 7,5 vs CTR = 7,7%, $P < 0,01$); questo è dovuto, probabilmente, ad una minor contenuto percentuale di caseina del latte TRT rispetto a quello CTRL. Tuttavia, è importante rilevare che le bovine trattate hanno mostrato una produzione di latte superiore a quelle del gruppo controllo. Alla luce della maggiore produzione di latte registrata nel gruppo trattato con monensina, si verifica che la quantità globale di formaggio prodotto nel gruppo trattato con monensina risulta complessivamente maggiore rispetto a quella prodotta con il latte del gruppo di controllo. Se infatti si va a considerare la quantità di formaggio prodotta a 18 mesi in termini di kg formaggio/vacca/giorno (calcolata tenendo conto della resa a 18 mesi e della produzione media individuale), essa risulta significativamente ($P < 0,01$) e marcatamente più alta per gruppo trattato rispetto al gruppo di controllo: TRT = 2,89 vs CTR = 2,42; kg formaggio/capo/giorno.

La composizione finale del formaggio è risultata nella norma. L'espertizzazione mediante raggi X a 6 mesi di stagionatura ha evidenziato, per il gruppo trattato, una percentuale significativamente più alta di formaggi senza difetti (TRT = 93,8% vs CTR = 87,7%, $P < 0,01$); questo risultato è stato confermato dall'espertizzazione del Consorzio del Formaggio Parmigiano Reggiano effettuata per battitura a 12 mesi di stagionatura (TRT = 98,5% vs CTR = 93,5%, $P < 0,01$). Probabilmente questo risultato è principalmente dovuto alla minore insorgenza di chetosi e di dismetabolie del gruppo trattato rispetto a quello di controllo. In conclusione, i risultati della ricerca suggeriscono che il trattamento delle bovine con capsula a rilascio controllato di monensina non altera le caratteristiche di qualità del latte, del sieroinnesto o del formaggio Parmigiano Reggiano; inoltre, la produzione di formaggio/capo/giorno è più elevata.

In un recente lavoro, Mezzetti et al. [40] hanno investigato gli effetti della somministrazione di monensina a rilascio controllato sulla produzione e la qualità del latte destinato alla produzione di formaggi duri e a lunga maturazione (come Parmigiano Reggiano e Grana Padano); è stato investigato anche l'effetto dell'ordine di parto delle bovine. Quattordici vacche primipare e 24 pluripare sono state assegnate casualmente al gruppo trattato con monensina

o al gruppo di controllo. Il gruppo trattato ha ricevuto, 21 giorni prima del parto, 32,4 g di monensina in una capsula a rilascio controllato. La produzione di latte media per l'intera durata dell'esperimento (da 2 a 56 giorni di lattazione) è risultata più alta nel gruppo trattato, rispettivamente di 39,35 kg per il gruppo trattato e 38,83 kg per quello di controllo. In modo particolare, essa risultava più elevata nelle vacche primipare che ricevevano monensina rispetto alle vacche del gruppo di controllo, tra 15 e 41 giorni di lattazione.

Nelle vacche primipare, il gruppo trattato faceva registrare un contenuto di grasso inferiore rispetto al gruppo di controllo, mentre per le vacche pluripare avveniva il contrario, ovvero esso era maggiore nel gruppo trattato. Il contenuto di proteina risultava più alto nel gruppo trattato, ma questo effetto si è verificato maggiormente nelle vacche primipare rispetto alle vacche pluripare. Nessun effetto significativo del trattamento è apparso per le caratteristiche di coagulazione.

CONCLUSIONI

In conclusione si può affermare che:

- a. le vacche che producono più latte sono maggiormente soggette a chetosi;
- b. con la chetosi (clinica e subclinica) si ha una sensibile perdita quantitativa di latte;
- c. con la chetosi (clinica e subclinica) il latte è di peggiore qualità perché:
 - aumenta il rapporto grasso/proteina
 - diminuisce il contenuto di caseina
 - si modifica la composizione del grasso
 - diminuisce il contenuto di minerali
 - diminuisce la resa casearia (calo stimato anche di -2,54 kg per 100 kg di latte).

La chetosi subclinica, inoltre, è ancora più insidiosa di quella cli-

nica, perché le perdite economiche avvengono senza che l'allevatore se ne accorga.

Tuttavia, anche nella chetosi clinica, qualora le vacche siano trattate, il danno economico è avvenuto ugualmente, perché il calo produttivo può essere iniziato anche diversi giorni prima della comparsa dei sintomi.

Le perdite hanno luogo soprattutto nella prima parte della lattazione, e sono più marcate nelle bovine che hanno ordine di parto più alto. È quindi fondamentale, al fine di prevenire la chetosi, che gli allevatori gestiscano in modo opportuno il management aziendale, in particolar modo prendendosi cura delle vacche ad alto rendimento, per fare in modo che siano meno sensibili alla chetosi. Questa attenzione deve tenere conto dei periodi e dell'ordine di lattazione delle bovine.

CONFLITTO DI INTERESSE

Non esistono conflitti di interesse di ordine economico o di altro tipo sull'articolo presentato.

BIBLIOGRAFIA

1. LeBlanc S. Monitoring metabolic health of dairy cattle in the transition period. *J Reprod Dev* 2010; 56(Suppl):S29-S35.
2. Baird GD. Primary ketosis in the high producing dairy cow: clinical and subclinical disorders, treatment, prevention, and outlook. *J Dairy Sci* 1982; 65:1-10.
3. Duffield T. Subclinical ketosis in lactating dairy cattle. *Veterinary Clinics of North America, Food Animal Pract* 2000; 16(2):231-253.
4. Oetzel GR, Emery KM, Kautz WP, Nocek JE. Direct-fed microbial supplementation and health and performance of pre- and postpartum dairy cattle: a field trial. *J Dairy Sci* 2007; 90(4):2058-2068.
5. Palmquist DL, Davis CL, Brown RE, Sachan DS. Availability and metabolism of various substrates in ruminants: V. Entry rate into the body and incorporation into milk fat of D(-)B-hydroxybutyrate. *J Dairy Sci* 1969; 52:633-638.
6. Vanholder T, Papen J, Bemers R, Vertenten G, Berge ACB. Risk factors for subclinical and clinical ketosis and association with production parameters in dairy cows in the Netherlands. *J Dairy Sci* 2015; 98:880-888.
7. Lean IJ, Bruss ML, Baldwin RL, Troutt HF. Bovine ketosis: a review: I. Epidemiology and pathogenesis. *Vet Bull* 1991; 61:1209-1218.
8. Andersson L. Subclinical ketosis in dairy cows. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 1988; 4:233-248.
9. Lean IJ, Bruss ML, Baldwin RL, Troutt HF. Bovine ketosis: a review. II. Biochemistry and prevention. *Vet Bull* 1992; 62:1-14.
10. Kauppinen K. Prevalence of bovine ketosis in relation to number and stage of lactation. *Acta Veterinaria Scandinavica* 1983; 24(4):349-361.
11. Suthar VS, Canelas-Raposo J, Deniz A, Heuwieser W. Prevalence of subclinical ketosis and relationships with postpartum diseases in European dairy cows. *J Dairy Sci* 2013; 96:2925-2938.
12. Berge AC, Vertenten G. A field study to determine the prevalence, dairy herd management systems, and fresh cow clinical conditions associated with ketosis in western European dairy herds. *J Dairy Sci* 2014; 97:2145-2154.

13. Lucey S, Rowlands GJ, Russell A. Short-term associations between disease and milk yield of dairy cows. *J Dairy Res* 1986; 53:7-15.
14. Deluyker HA, Gay JM, Weaver LD, Azari AS. Change of milk yield with clinical diseases for a high producing dairy herd. *J Dairy Sci* 1991; 74(2), 436-445.
15. Detilleux JC, Gröhn YT, Quaas RL. Effects of clinical ketosis on test day milk yields in Finnish Ayrshire cattle. *J Dairy Sci* 1994; 77:3316-3323.
16. Rajala-Schultz PJ, Gröhn YT, McCulloch CE. Effects of milk fever, ketosis, and lameness on milk yield in dairy cows. *J Dairy Sci* 1999; 82:288-294.
17. Kocak O, Ekiz B. Effects of left displaced abomasum, ketosis and digestive disorders on milk yield in dairy cows. *Bulg J Vet Med* 2006; 9(4):273-280.
18. Ospina PA, Nydam DV, Stokol T, Overton TR. Association between the proportion of sampled transition cows with increased nonesterified fatty acids and β -hydroxybutyrate and disease incidence, pregnancy rate, and milk production at the herd level. *J Dairy Sci* 2010; 93:3595-3601.
19. Colombini S, Crovetto GM. Meno latte se la vacca è a rischio chetosi. *Inf Agr* 2014; 29(Suppl. A):21-23.
20. Antanaitis R, Žilaitis V, Kučinskas A, Juozaitienė V, Leonauskaitė K. Changes in cow activity, milk yield, and milk conductivity before clinical diagnosis of ketosis, and acidosis. *Veterinarija ir Zootechnika* 2015; 70(92):3-9.
21. Gantner V, Bobić T, Potočnik K. Prevalence of metabolic disorders and effect on subsequent daily milk quantity and quality in Holstein cows. *Arch An Breeding* 2016; 59(3):381-386.
22. Benedet A, Penasa M, Cassandro M, De Marchi M. Effects of ketosis status defined by FTIR spectroscopy on milk quality traits of first-lactation cows. *Agr Consp Scient* 2017; 82(2):167-170.
23. Miettinen PVA, Setälä JJ. Relationships between subclinical ketosis, milk production and fertility in Finnish dairy cattle. *Prev Vet Med* 1993; 17:1-8.
24. Miettinen PVA. Relationship between milk acetone and milk yield in individual cows. *J Vet Med A* 1994; 41:102-109.
25. Solbu H. Disease recording in Norwegian dairy cattle: I. Disease incidences and non-genetic effects on mastitis, ketosis and milk fever. *Z Tierz Zuchtungsbiologie* 1983; 100:139-157.
26. Fouz R, Vina C, Yus E, Sanjuan ML, Dieguez FJ. [Ketosis in dairy cows after calving and its effect on fat and protein levels during lactation]. Presented at the XVI Jornadas sobre Produccion Animal, Zaragoza (ES), 19-20 May 2015, Vol. 1, 257-259.
27. Raboisson D, Mounié M, Maigné E. (2014). Diseases, reproductive performance, and changes in milk production associated with subclinical ketosis in dairy cows: a meta-analysis and review. *J Dairy Sci* 2014; 97:7547-7563.
28. Yang W, Zhang B, Xu C, Zhang H, Xia C. Effects of ketosis in dairy cows on blood biochemical parameters, milk yield and composition, and digestive capacity. *J Vet Res* 2019; 63(4):555-560.
29. Dieguez FJ, Pedreira J, Fouz R. [Bovine ketosis and its influence on the quality of milk]. *Albeitar* 2018; (219):28-29.
30. Grieve DG, Korver S, Rijpkema YS, Hof G. Relationship between milk composition and some nutritional parameters in early lactation. *Lact Prod Sci* 1986; 14:239-254.
31. Palich P, Kruk A, Grajewski H. [Effects of ketosis on composition and physicochemical properties of milk. I. Chemical composition of milk]. *Zeszyty Naukowe Akademii Rolniczo-Technicznej w Olsztynie, Technologia Żywności* 1984a; 20:95-105.
32. ISO/IDF. Milk and liquid milk products d Guidelines for the application of mid-infrared spectrometry. IDF bulletin N 141, 2013. Brussels, Belgium: International Dairy Federation.
33. Urech E, Puhan Z, Schällibaum M. Changes in milk protein fraction as affected by subclinical mastitis. *J Dairy Sci* 1999; 82:2402-2411.
34. Formaggioni P, Summer A, Malacarne M, Franceschi P, Mucchetti G. Italian and Italian-style hard cooked cheeses: Predictive formulas for Parmigiano-Reggiano 24-h cheese yield. *Int Dairy J* 2015; 51:52-58.
35. Palich P, Kruk A, Grajewski H. [Effect of ketosis on composition and physicochemical properties of milk. II. Chemical composition of milk fat]. *Zeszyty Naukowe Akademii Rolniczo-Technicznej w Olsztynie, Technologia Żywności* 1984b; 20:107-114.
36. Malacarne M, Franceschi P, Formaggioni P, Sandri S, Mariani P, Summer A. Influence of micellar calcium and phosphorus on rennet coagulation properties of cows milk. *J Dairy Res* 2014; 81:129-136.
37. Mariani P, Summer A, Formaggioni P, Malacarne M, Battistotti B. Rilievi sui principali requisiti tecnologico-caseari del latte per la produzione di formaggio grana. *Sci Tecn Latt-Cas* 2001; 52(1):49-91.
38. Archilei F. Meno chetosi, ottimo formaggio. *Prof Allev* 2016; (6):12-15.
39. Piccioli-Capelli F, Maianti MG, Molinari A, Bertoni G. Effetti della supplementazione con Monensin sulle caratteristiche produttive e metaboliche delle bovine da latte. Presented at the 50° Congresso delle Scienze Veterinarie (S.I.S.Vet.), Perugia (IT), 25-28 Sept. 1996, Vol. 50, 561-562.
40. Mezzetti M, Piccioli-Cappelli F, Bani P, Amadori M, Calamari L, Minuti A, Looor JJ, Bionaz M, Trevisi E. Monensin controlled-release capsule administered in late-pregnancy differentially affects rumination patterns, metabolic status, and cheese-making properties of the milk in primiparous and multiparous cows. *Int J An Sci* 2019; 18(1):1271-1283.
41. Mammi LME, Grazia L, Palmonari A, Canestrari G, Mordenti A, Vecchi M, Formigoni A. Does the dry cow treatment with monensin controlled release capsule affect Parmigiano Reggiano cheese production?. *J Dairy Sci* 2018; 101(10):8847-8859.
42. Formaggioni P, Malacarne M, Franceschi P, Summer A. Influenza del management e dell'alimentazione animale sulla resa in formaggio Parmigiano Reggiano e Grana Padano: una minireview. *Sci Tecn Latt-Cas* 2020; 70(1):16-20.