# Influenza dell'Infezione Intramammaria Subclinica (IMI) da agenti patogeni infettivi sulla Salute Della Mammella e Sulla Qualità Del Latte

Dott.ssa Anastasia Lisuzzo

19/11/2021

# Le Mastiti

L'infezione intramammaria (**IMI**) genera una risposta infiammatoria

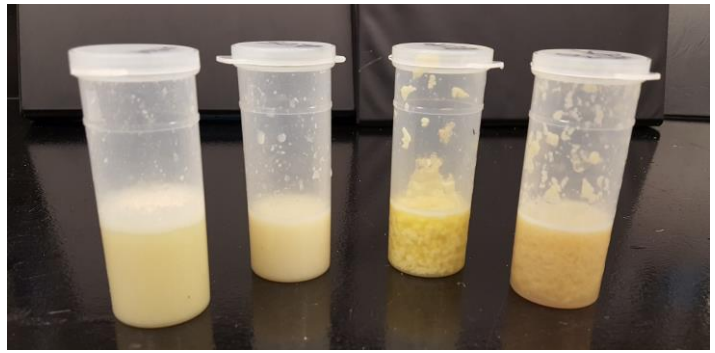
Mastite **clinica** (lieve, moderata e grave) e **subclinica**

Le mastiti, in particolare le forme subcliniche, hanno un forte **impatto economico** a causa della riduzione della produzione di latte, trattamenti farmacologici, aumento del tasso di riforma ed occasionalmente morte

Gli agenti infettivi si suddividono in **contagiosi** (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, CNS, e *Mycoplasma bovis*) ed **ambientali** (*Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *E. coli*, *Enterobacter spp.* e *Prototheca spp.*)

Il **gold standard** per la diagnosi è rappresentato l'isolamento colturale tramite **esame batteriologico**

Altri **test diretti** (On-farm culture-OFC) ed **indiretti** (**SCC>200.000cell/mL**) possono essere utilizzati



Abebe et al., 2016 Jagielski et al., 2019

Godden et al., 2017 Seegers et al., 2003

# Il Progetto e gli Obiettivi

Questo studio fa parte del **progetto LATSAN** che mira a **sviluppare strumenti innovativi** nello studio e gestione dello stato sanitario della mammella e del benessere animale finalizzati al **miglioramento della qualità nutrizionale del latte**

La ricerca è stata **approvata dal comitato etico** dell'Organismo Preposto al Benessere degli Animali (**OPBA**) – n. protocollo 510/2019-PR del 19/07/2019

L'**obiettivo** del presente studio era quello di valutare l'**influenza** dell'infezione intramammaria (**IMI**) subclinica non-indotta causata da agenti patogeni infettivi sulla **composizione del latte** e degli indicatori di **salute della mammella**

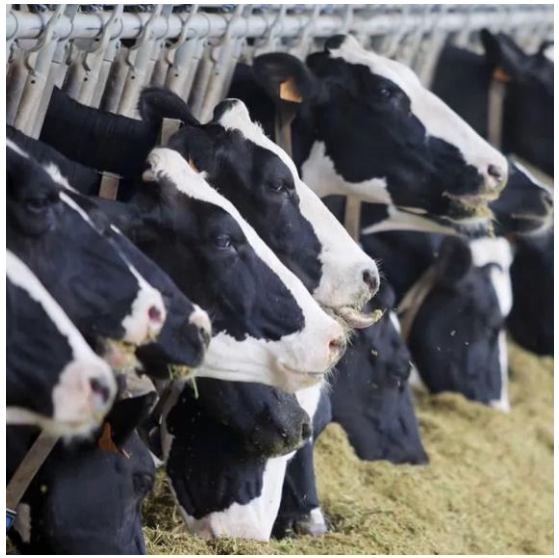
# Materiali e Metodi

**3 Aziende** localizzate in Veneto sono state selezionate per **l'elevata incidenza** di mastite da **agenti patogeni contagiosi** riscontrate negli anni precedenti dall'Istituto Sperimentale Zooprofilattico delle Venezie (**IZSVe**)

Lo ***Streptococcus uberis*** è stato considerato per il presente progetto in quanto rappresenta il **principale patogeno ambientale** associato alle mastiti cliniche e subcliniche

La presenza dei patogeni è stata confermata prima dell'inizio dello studio tramite **screening epidemiologico**, riscontrando i seguenti patogeni:

- *Staphylococcus aureus*
- *Streptococcus agalactiae*
- *Streptococcus uberis*
- *Prototheca spp.*



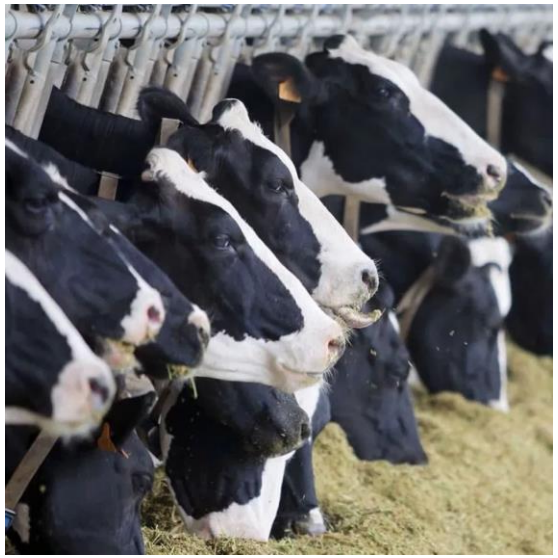
# Materiali e Metodi

Un totale di **450 bovine** di razza **Frisona** è stato utilizzato

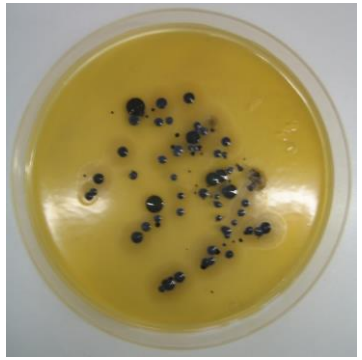
- 144 bovine provenivano dall'Azienda A
- 71 bovine provenivano dall'Azienda B
- 235 bovine provenivano dall'Azienda C

Gli animali affetti da **mastite clinica** o **farmacologicamente trattati** sono stati **esclusi** dallo studio

| Tempo 0 – T0 | 2 settimane | Tempo 1 – T1 | 4 settimane | Tempo 2 – T2 |
|---|---|---|---|---|
| Latte individuale | | Latte dei quarti | | Latte dei quarti |
| Esame batteriologico | | Esame batteriologico | | Esame batteriologico |
| **Sani/IMI** | | | | |



# Materiali e Metodi



Le **analisi batteriologiche** per il latte individuale e dei quarti sono state condotte all'Istituto Sperimentale Zooprofilattico delle Venezie (**IZSVe**)

Le analisi della **qualità del latte** (grasso%, proteina%, caseina%, lattosio% ed urea mg/100g) sono state condotte tramite analizzatore ad infrarossi MilkoScan FT6000 (Foss A/S, Hillerød, Denmark)

Le analisi dei parametri di **salute della mammella** (SCC e DSCC) sono state condotte tramite analizzatore Fossomatic™ 7 DC (Foss A/S, Hillerød, Denmark)

# Materiali e Metodi

Conta Cellule Somatiche (**SCC**)

Score delle Cellule Somatiche (**SCS**)

Polimorfonucleati o Neutrofili (**PMN**)

Linfociti (**LYM**)

Macrofagi (**MAC**)

Conta Cellule Somatiche Differenziali (**DSCC**)

$SCS = Log_2 (SCC/100) + 3$

$DSCC = 100 \times (PMN+LYM)/SCC$

Conta PMN-LYM= DSCC x SCC ($10^3$/mL)
→ $Log_2(PMN\text{-}LYM/100.000) + 3$

Conta MAC= (100-DSCC) x SCC ($10^3$/mL)
→ $Log_2(MAC/100.000) + 3$

**L'Analisi Statistica** è stata condotta mediante **modelli lineari misti** che includevano i seguenti fattori: DIM, ordine di parto, azienda, esito dell'esame batteriologico e l'effetto animale

Si è valutata la **differenza tra i sani** e gli affetti da **IMI a T0**

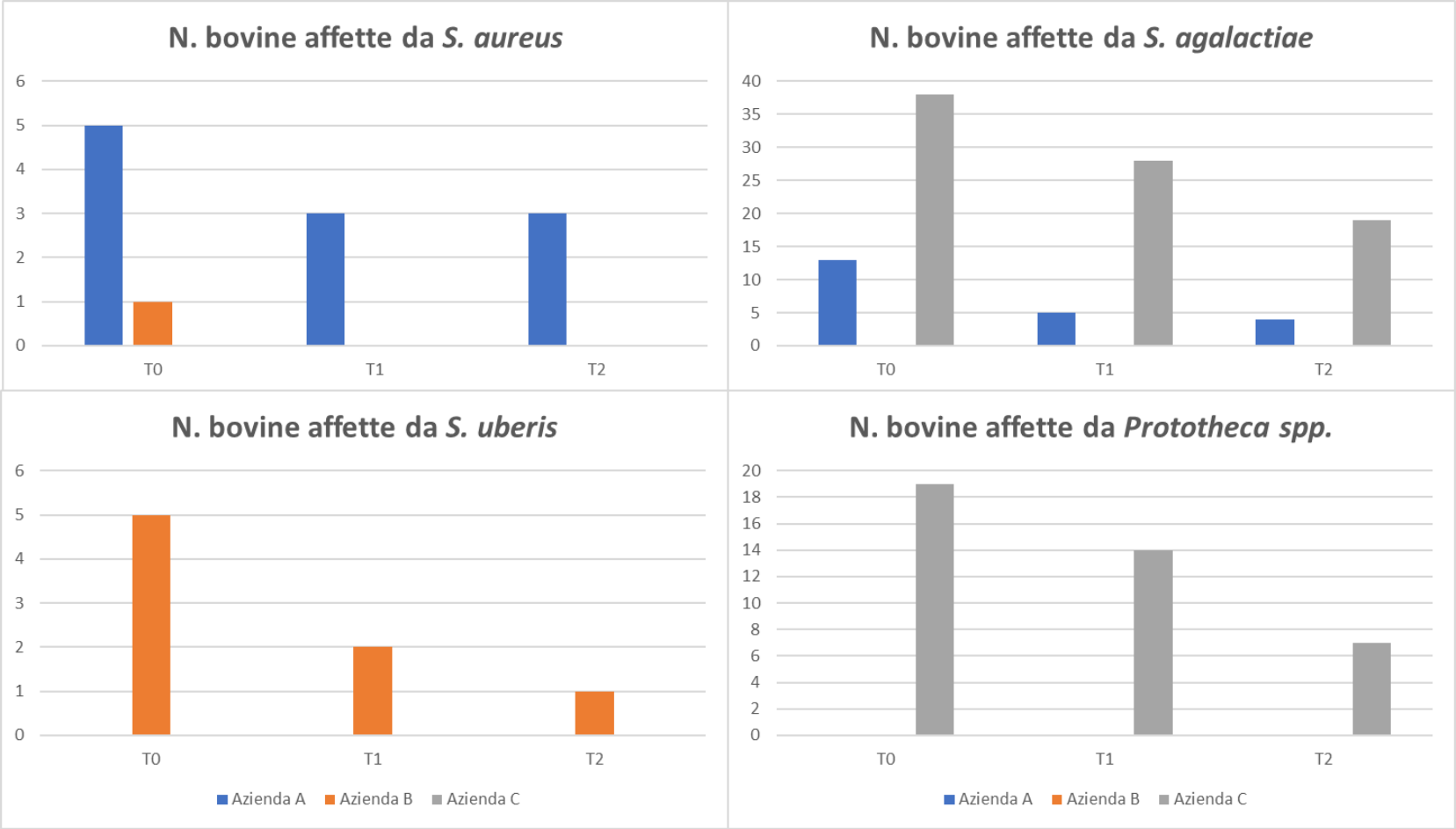
Una **seconda analisi** si è focalizzata sull'**azienda C a T1 e T2** dovuta all'alta prevalenza di IMI

# Risultati e Discussione

| Microrganismi | T0 | | T1 | | T2 | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | N. bovine | Per azienda | N. bovine | Per azienda | N. bovine | Per azienda |
| *Bovine affette da IMI* | 78 di 450 | | 51 di 450 | | 34 di 450 | |
| *S. Aureus* | 6 | 5 Azienda A<br>1 Azienda B<br>0 Azienda C | 3 | 3 Azienda A<br>0 Azienda B<br>0 Azienda C | 3 | 3 Azienda A<br>0 Azienda B<br>0 Azienda C |
| ***S. Agalactiae*** | **51** | 13 Azienda A<br>0 Azienda B<br>38 Azienda C | **32** | 5 Azienda A<br>0 Azienda B<br>28 Azienda C | **23** | 4 Azienda A<br>0 Azienda B<br>19 Azienda C |
| *S. Uberis* | 5 | 0 Azienda A<br>5 Azienda B<br>0 Azienda C | 2 | 0 Azienda A<br>2 Azienda B<br>0 Azienda C | 1 | 0 Azienda A<br>1 Azienda B<br>0 Azienda C |
| *Prototheca* | 19 | 0 Azienda A<br>0 Azienda B<br>19 Azienda C | 14 | 0 Azienda A<br>0 Azienda B<br>14 Azienda C | 7 | 0 Azienda A<br>0 Azienda B<br>7 Azienda C |

Åkerstedt et al., 2012

# Risultati e Discussione




Progressiva guarigione

Eliminazione intermittente

Batterio fagocitato dai neutrofili

Bobbo et al., 2017

Constable et al., 2017

Paixão et al., 2017

Sears et al., 1990

# Positivi *vs.* Negativi

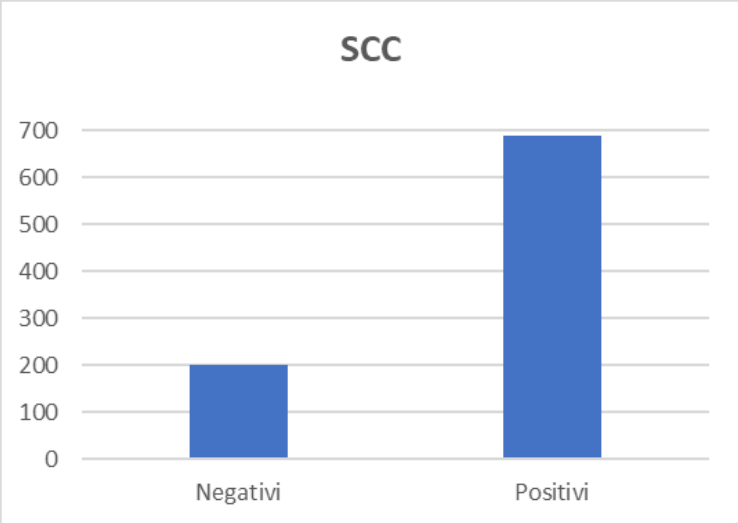
| Parametri a T0 | Negativi | Positivi |
|---|---|---|
| Produzione giornaliera (kg/gg) | 30.82 ± 9.69 | 30.23 ± 10.59 |
| Composizione del latte | | |
| Grasso % | 3.56 ± 1.04 | 3.34 ± 1.21 |
| Proteina % | 3.48 ± 0.41 | 3.46 ± 0.40 |
| Caseina % | 2.72 ± 0.29 | 2.69 ± 0.31 |
| Lattosio % | 4.80 ± 0.26 | 4.75 ± 0.23 |
| SCC x 1000 / ml | 199.70 ± 460.43[a] | 688.64 ± 885.55[b] |
| SCS | 2.71 ± 1.82[a] | 4.37 ± 2.29[b] |
| DSCC | 60.44 ± 14.91[a] | 69.58 ± 13.69[b] |
| Log PMN-LYM | 1.93 ± 2.06[a] | 3.81 ± 2.54[b] |
| Log MAC | -1.74 ± 1.57[a] | -0.34 ± 1.93[b] |

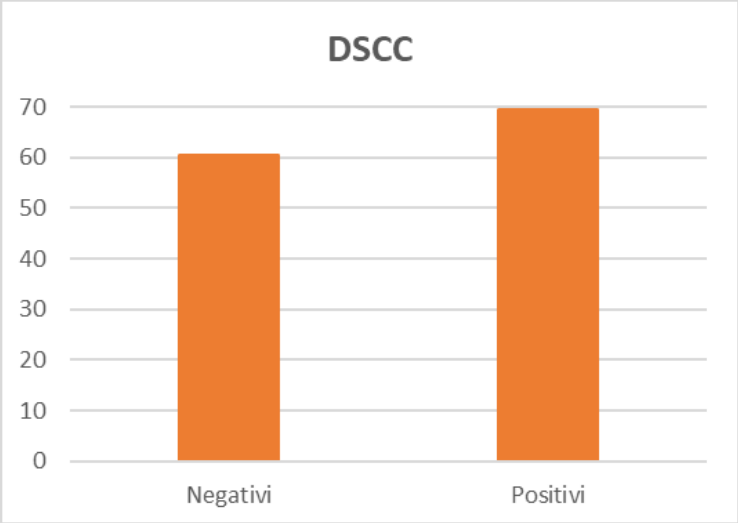
La presenza di **IMI** attiva il sistema immunitario con una conseguente **alterazione** dei componenti del latte e dei parametri di salute della mammella

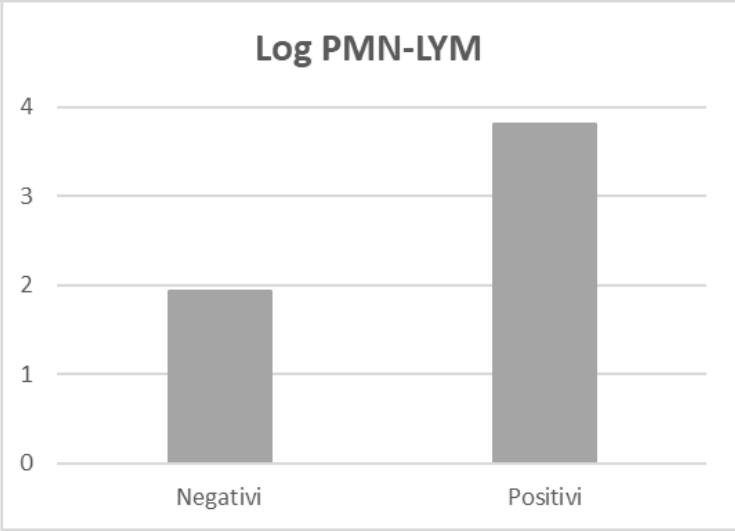
Il **grado dei cambiamenti** dipende dalla tipologia di risposta infiammatoria, quantità di tessuto affetto e patogenicità del m.o.

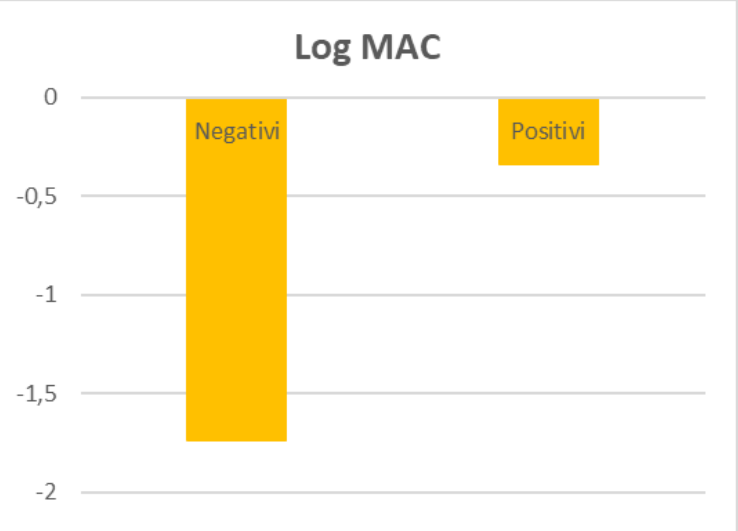

Åkerstedt et al., 2012
Malek dos Reis et al., 2013
Bobbo et al., 2017
Paixão et al., 2017
Constable et al., 2017
Rainard et al., 2018
Godden et al., 2017
Schwarz et al., 2019

# Positivi *vs.* Negativi




Le **SCC** sono riconosciute a livello internazionale come **misura standard** della **salute della mammella**

Le **popolazione cellulare basale** è costituita principalmente da **MAC**

In corso di **IMI** aumentano principalmente i **PMN**


Åkerstedt et al., 2012

Bobbo et al., 2017

Constable et al., 2017

Godden et al., 2017

Malek dos Reis et al., 2013

Paixão et al., 2017

Rainard et al., 2018

Schwarz et al., 2019

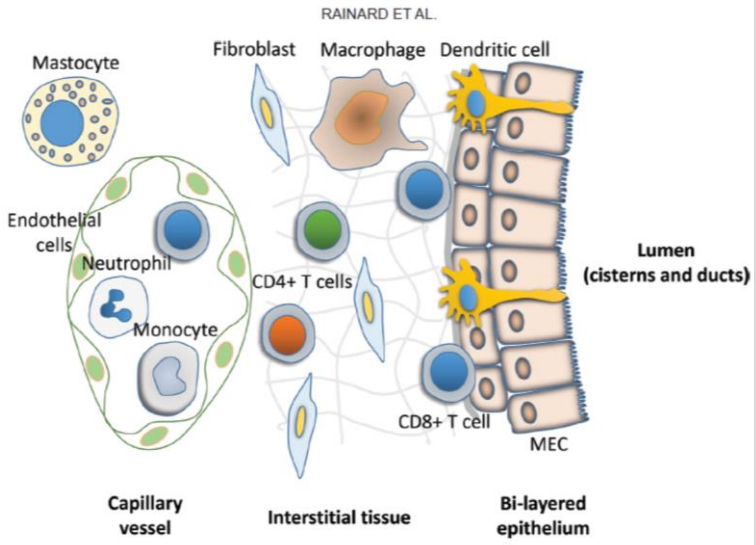
# Positivi *vs.* Negativi

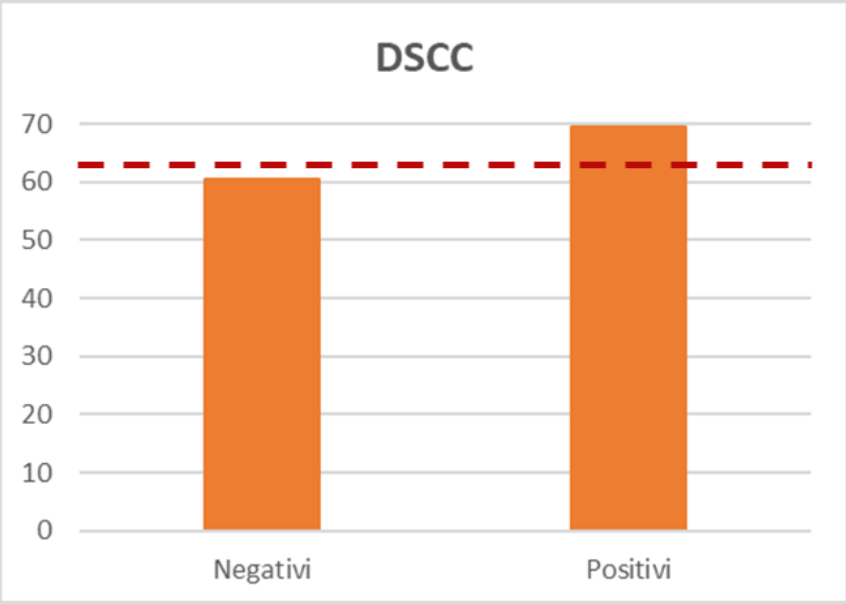
La **gravità e la durata** della mastite **dipende** dall'entità e velocità della **risposta infiammatoria**

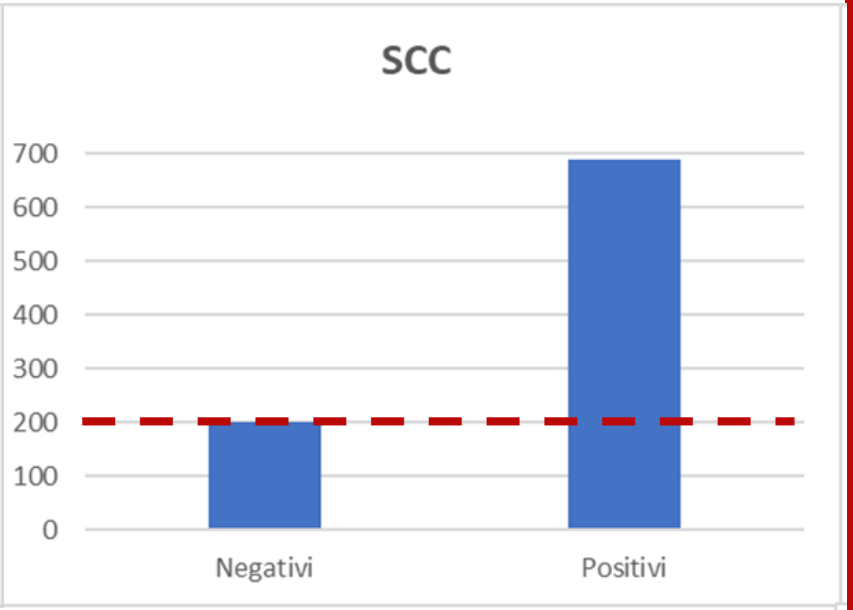
**DSCC**= 100*(**PMN**+LYM)/**SCC**

Il **62% di DSCC** rappresenta il **valore soglia** per IMI

**62%** DSCC e **200.000** cell/ml → **minore utilizzo di antibiotico** in allevamento



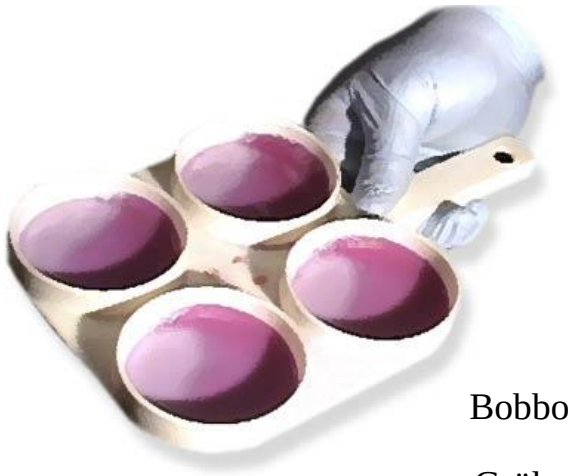




Halasa and Kirkeby, 2020 Schwarz et al., 2019

# Tempo 1 e Tempo 2

| Microrganismi | T1 | | T2 | |
|---|---|---|---|---|
| | N. bovine | N. quarti | N. bovine | N. quarti |
| *Casi di IMI* | 51 di 450 | 74 di 321 | 34 di 450 | 53 di 292 |
| *S. Aureus* | 3 | 4 | 3 | 3 |
| ***S. Agalactiae*** | 32 | 50 | 23 | 38 |
| *S. Uberis* | 2 | 3 | 1 | 1 |
| ***Prototheca*** | 14 | 17 | 7 | 11 |



Negativi: negativi all'esame batteriologico e SCC<200.000cell/ml

HSCC: negativi all'esame batteriologico e SCC≥200.000cell/ml

Sa: positivo per *S. agalactiae*

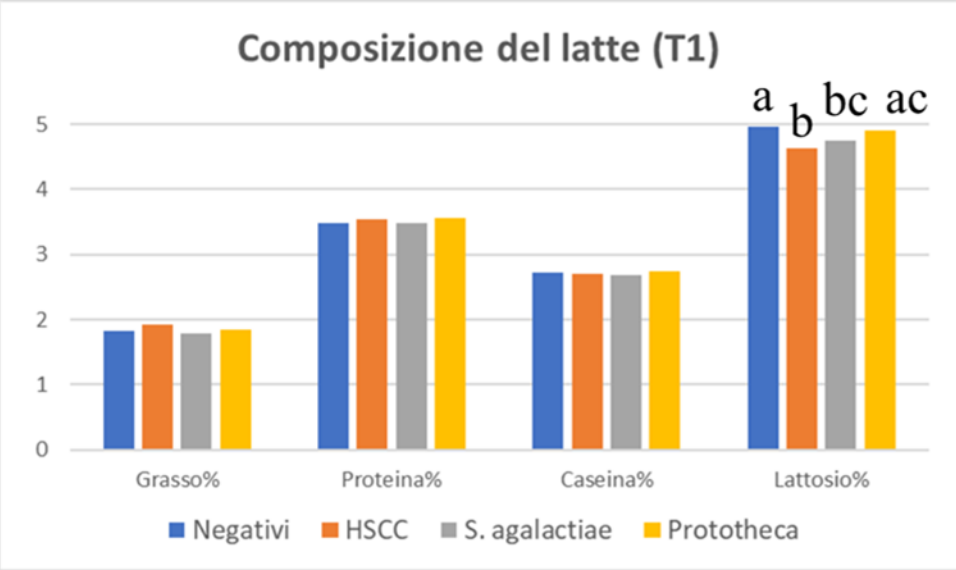
P: positivo per *Prototheca spp.*

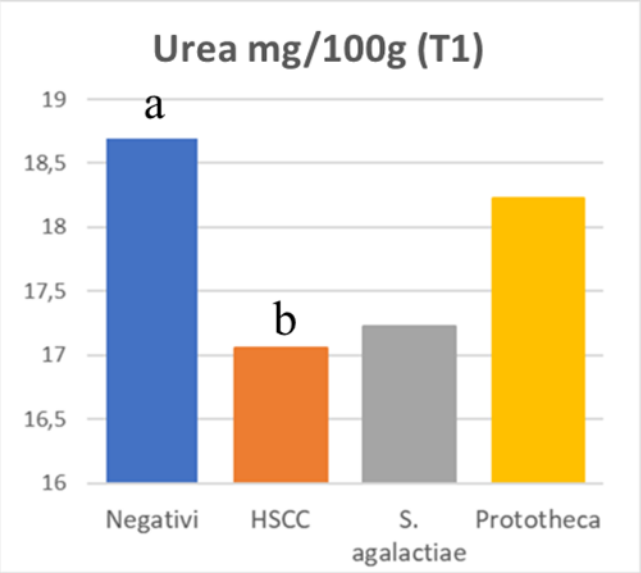
Bobbo et al., 2017

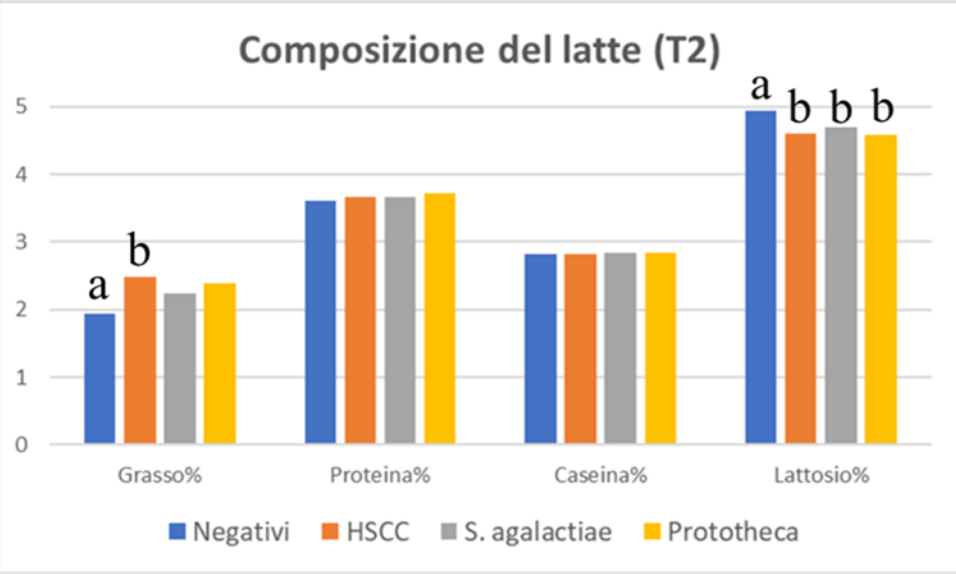
Gröhn et al., 2004

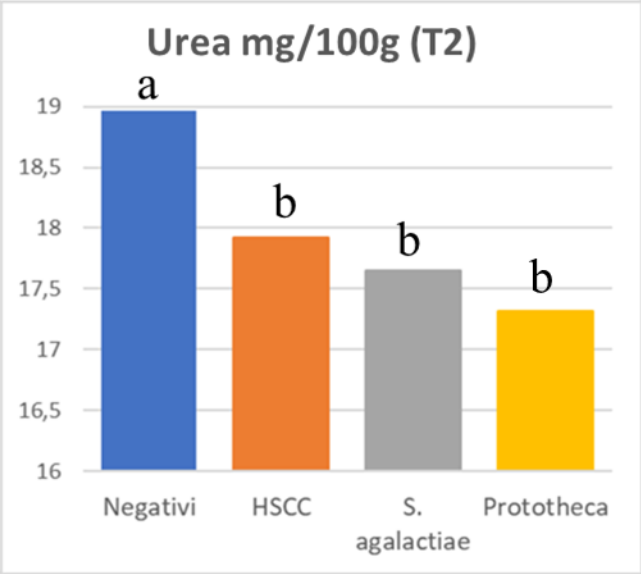
Hertl et al., 2014

# La composizione del latte




Una **riduzione** dei livelli di **lattosio%** ed **urea**, ed un **incremento** del **grasso%** sono compatibili con la presenza di **IMI**

**Il gruppo HSCC:**

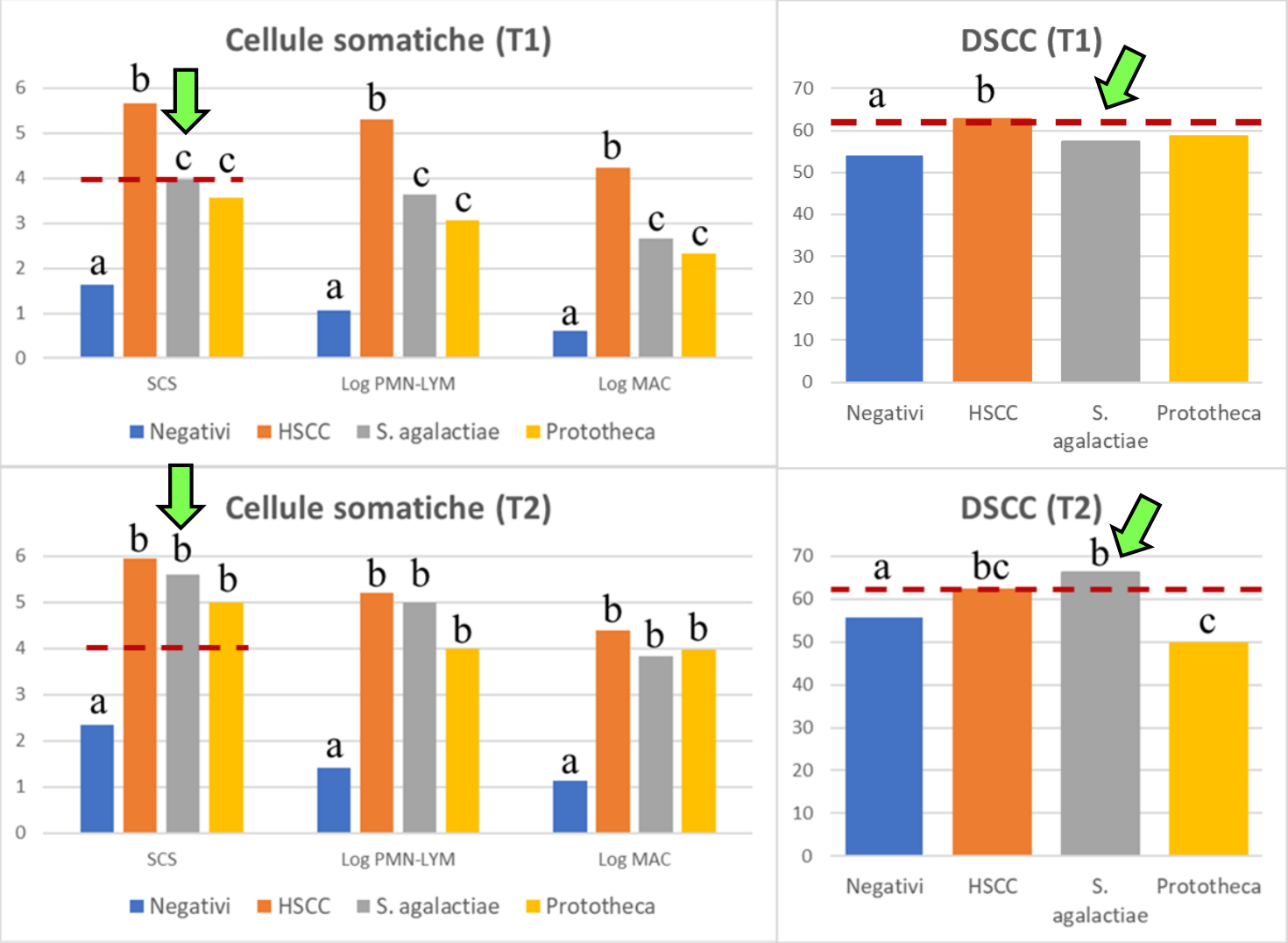
- IMI altera la composizione del latte anche dopo 6 settimane della diagnosi;
- Gruppo ad eliminazione intermittente non diagnosticato

Brandt et al., 2010

Malek dos Reis et al., 2013

Paixão et al., 2017

# La salute della mammella

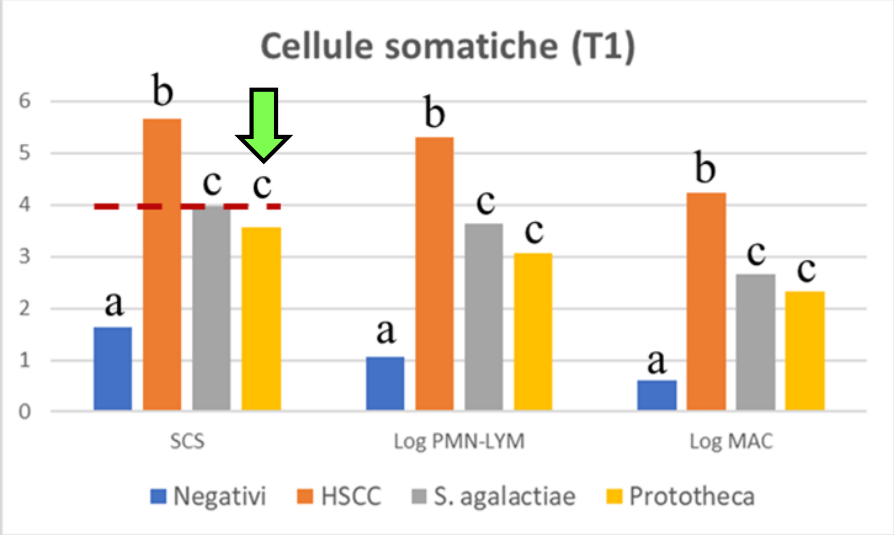


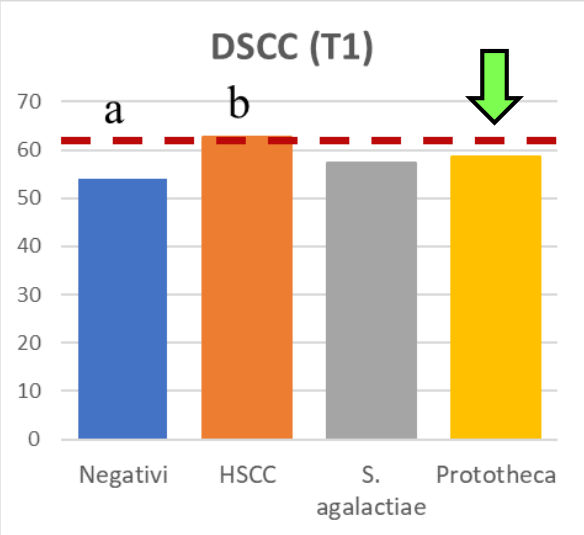

## Gruppo *S. agalactiae*:

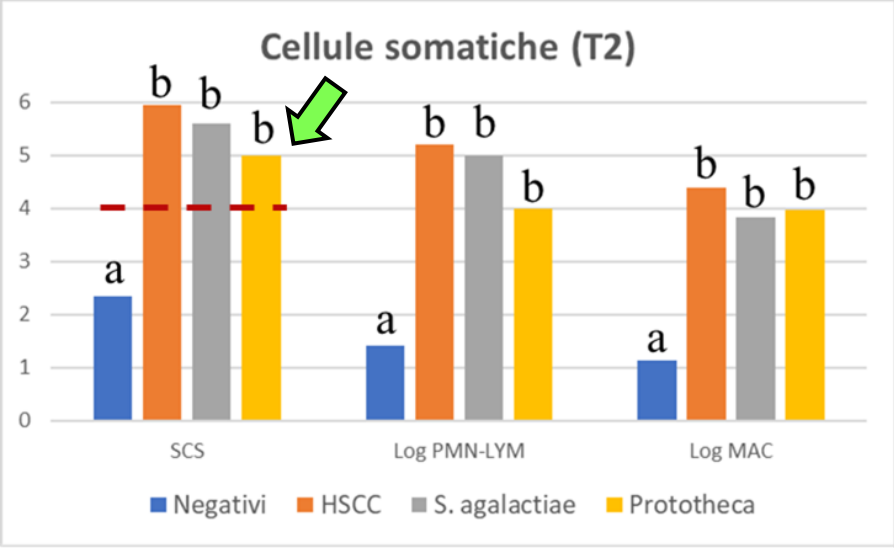
- **SCS aumentate** da T1 a T2 (da 3.96 o 195.000 cell/ml a 5.60 o 606.000 cell/ml)
- **DSCC aumentate** (da 57.31% a 66.28%)
- Log PMN-LYM=da 3.64 a 4.98 (1.34)
- Log MAC=da 2.65 a 3.82 (1.17)

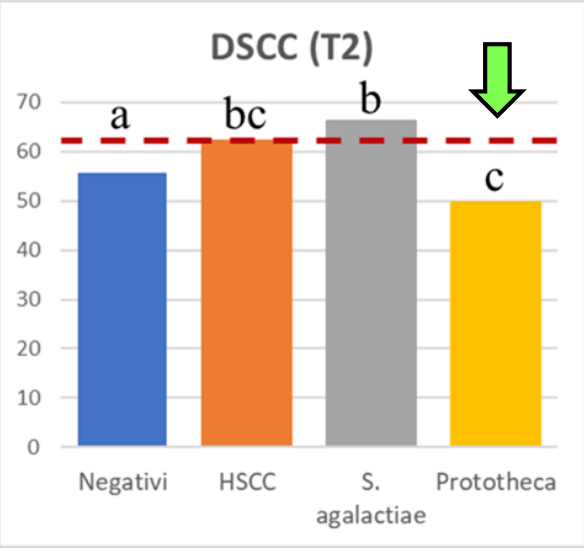
**Acutizzazione** dello stato infiammatorio

# La salute della mammella



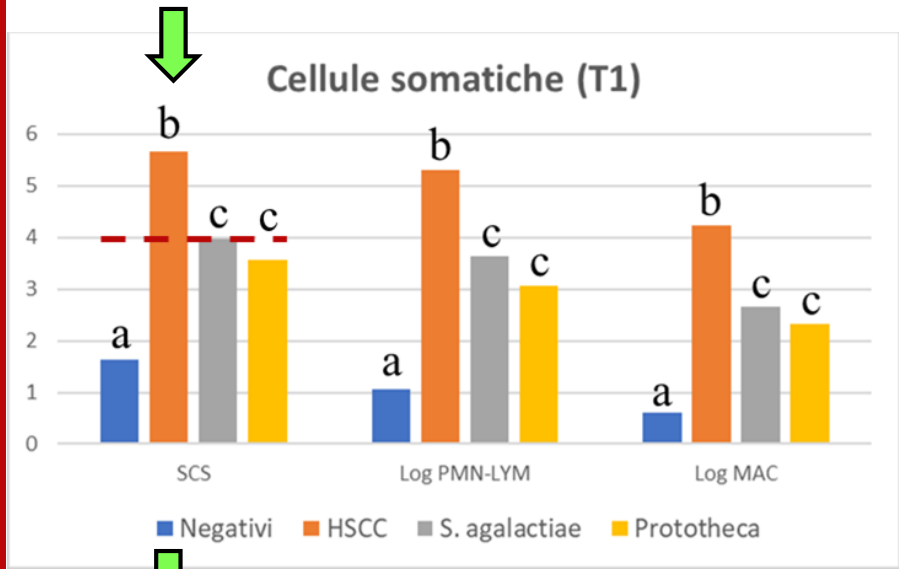

## Gruppo *Prototheca spp.*:

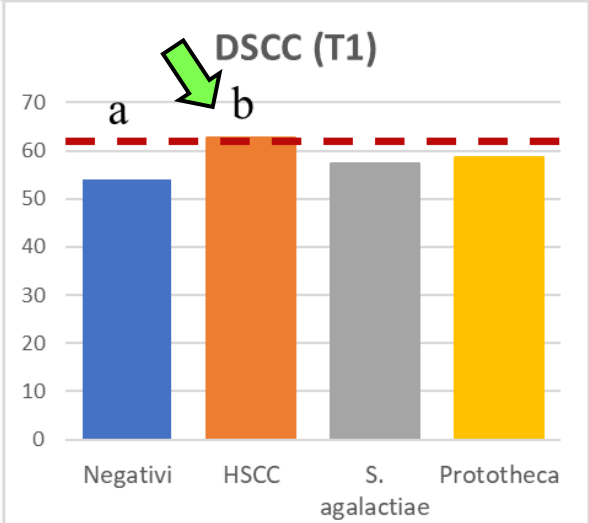
- **SCS aumentate** da T1 a T2 (da 3.56 o 147.000 cell/ml a 4.98 o 394.000 cell/ml)
- **DSCC ridotte** (da 58.57% a 49.68%)
- Log PMN-LYM=da 3.06 a 3.99 (0.93)
- Log MAC=da 2.32 a 3.97 (1.65)

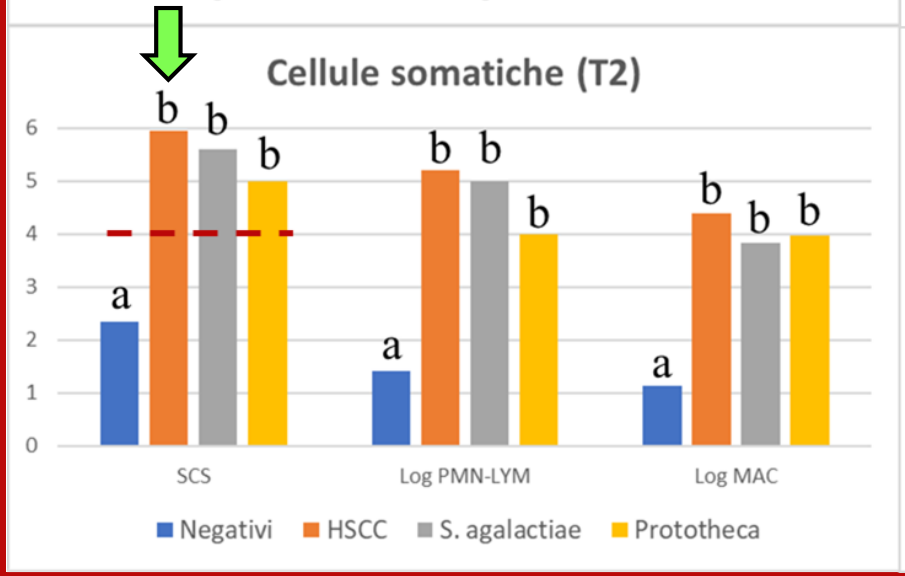
**Cronicizzazione** dello stato infiammatorio

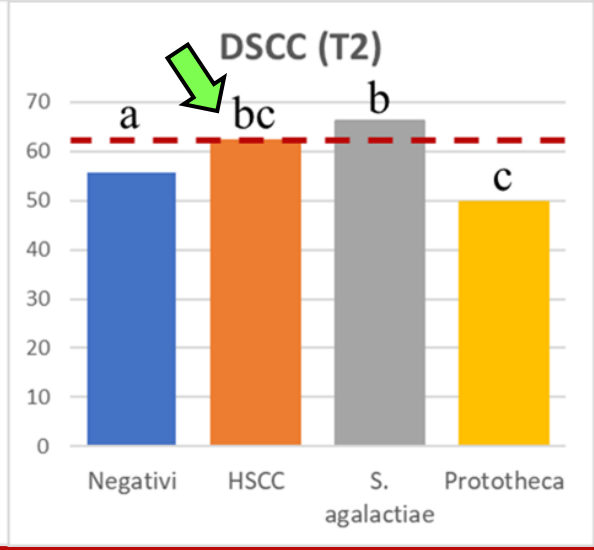
Jagielski et al., 2019 Wawron et al., 2013

# La salute della mammella




## Gruppo HSCC:

- **SCS aumentate** da T1 a T2 (da 5.66 o 632.000 cell/ml a 5.95 o 773.000 cell/ml)
- **DSCC stabili** (da 62.75% a 62.20%)
- Log PMN-LYM=da 5.30 a 5.20 (-0.10)
- Log MAC=da 4.22 a 4.38 (0.16)

Progressiva risoluzione dell'infiammazione

# Le DSCC

Allo stato attuale le DSCC vengono analizzate in **laboratorio**, ma iniziano ad essere presenti in commercio strumenti per le **analisi in campo**

Halasa and Kirkeby, 2020

# Le DSCC

California Mastitis Test (**CMT**)

**Risultati**: Traccia; 1+; 2+; 3+

Milk Leukocyte Differential test (**MLD**)

**Set**: **1**) smart mode (3 min) o research mode (15 min); **2**) Inizio Lattazione (EL) o Fine Lattazione (LL)

**Risultati**: 1-18 EL e 1-12 LL

**Valore soglia consigliato**: 12 EL e 6 LL

Diagnosi in Lattazione

**Alta Sp**

Asciutta selettiva

**Alta Se**

Godden et al., 2017

# Le DSCC

| Tipologia di studio | EL | | LL | |
|---|---|---|---|---|
| | CMT | MLD | CMT | MLD |
| Prelievo singolo | 51.9% Se<br>70.7% Sp | 20.8% Se<br>**93.0% Sp** | **63.0% Se**<br>52.9% Sp | 56.2% Se<br>70.5% Sp |
| Prelievo doppio in parallelo | 49.1% Se<br>68.1% Sp | 20.0% Se<br>**91.6% Sp** | **65.0% Se**<br>52.5% Sp | 61.7% Se<br>70.4% Sp |
| Prelievo doppio in serie | 52.2% Se<br>68.6% Sp | 21.7% Se<br>**93.4% Sp** | 72.7% Se<br>52.9% Sp | **78.8% Se**<br>71.4% Sp |

CMT: traccia

MLD: 12 EL e 6 LL

CMT: 1+

MLD: 12 EL e 6 LL

| Tipologia di studio | EL | | LL | |
|---|---|---|---|---|
| | CMT | MLD | CMT | MLD |
| Prelievo singolo | 20.8% Se<br>90.4% Sp | 20.8% Se<br>**93.0% Sp** | 41.1% Se<br>78.1% Sp | **56.2% Se**<br>70.5% Sp |
| Prelievo doppio in parallelo | 20.0% Se<br>89.2% Sp | 20.0% Se<br>**91.6% Sp** | 41.7% Se<br>77.1% Sp | **61.7% Se**<br>70.4% Sp |
| Prelievo doppio in serie | 17.4% Se<br>89.8% Sp | 21.7% Se<br>**93.4% Sp** | 51.5% Se<br>76.5% Sp | **78.8% Se**<br>71.4% Sp |

Godden et al., 2017

# Conclusioni

- La presenza di IMI non altera sempre la produzione e composizione del latte
- Elevate SCC possono essere riscontrate anche senza IMI
- In casi borderline o non responsivi ai trattamenti, potrebbe rivelarsi utile la contemporanea valutazione delle SCC e DSCC
- Trattamento degli animali con carente risposta immunitaria e fase acuta dell'infiammazione
- Riforma degli animali con cronicizzazione dell'infiammazione

800 ANNI 1222·2022

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

MAPS
DIPARTIMENTO DI MEDICINA ANIMALE, PRODUZIONI E SALUTE
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

# Vi ringrazio per l’attenzione

Ass. Orus
Latte
Carne
Veterinari Buiatri