



Le opportunità dei sistemi contacellule

La mastite, sia essa clinica che sub-clinica, è uno dei problemi più complessi per la bovina da latte e ancora da risolvere completamente. Si ritiene appartenere alle tre principali cause di eliminazione, insieme all'infertilità e alle zoppie. L'infiammazione della mammella esercita un ruolo negativo, oltre che sulla qualità del latte, anche sulla fertilità. Basti pensare che il tasso di gravidanza si riduce del 10%, se le cellule somatiche (SC) del latte, tra 0 e 4 settimane prima dell'inseminazione, sono > 200.000/ml, e che le mastiti cliniche durante un periodo di 14 giorni prima e 35 giorni dopo l'inseminazione riducono significativamente la probabilità di concepimento. Per tutelare la salute dei consumatori la legge (reg. 853/2004) impone ai produttori di consegnare un latte con un livello di SC \leq 400.000/ml e, se poi esso aspira alla categoria merceologica "latte di alta qualità", tale limite scende al di sotto delle 300.000. Sia ben inteso che non sono le cellule somatiche che sono nocive per la salute umana, ma il fatto che sono l'espressione di un'infezione o meglio un'infiammazione mammaria e che un latte mastitico ha una resa minore alla caseificazione.

In questi anni molti sono stati gli sforzi fatti per ridurre l'incidenza delle mastiti. Basti guardare il valore medio della concentrazione leucocitaria del latte analizzato dall'Istituto zooprofilattico sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, dove si evidenzia che si è passati dalle oltre 450.000 del 1997 alle attuali poco superiori alle 250.000 SC/ml. Abbiamo più volte però evidenziato che i dati delle cellule somatiche individuali analizzati durante i controlli funzionali per la selezione genetica sono ben più elevati. Questa discrepanza di risultati non deve sorprendere e non deve essere attribuita a differenti metodiche analitiche, ma al tipo di campione utilizzato, campione di massa per autocontrollo nel caso dell'IsLE e campione individuale da parte del Sistema Aia/Ara/Apa.

Recentemente il tema dell'antibiotico-resistenza nella medicina umana ha nuovamente messo sotto accusa

l'allevamento degli animali da reddito tra le cause principali di questo fenomeno, che se non controllato "promette" 10.000.000 di decessi nell'uomo nel 2025. Nella bovina si stima che il 60% degli antimicrobici viene utilizzato per curare le malattie della mammella e che 2/3 di essi sia impiegato alla messa in asciutta, periodo nel quale è possibile ridurre le infezioni della mammella ed evitare nuove infezioni. Molti sono gli studi e le prove che si stanno effettuando ultimamente per evitare un uso sistematico di antibiotici in questo periodo e per riservarlo solo alle bovine sicuramente infette (terapia selettiva in asciutta o selective dry-cow therapy).

Individuare una mastite clinica è relativamente semplice, perché esibisce un latte visibilmente alterato accompagnato o meno da una sintomatologia di una mammella o meglio di un quarto gonfio, caldo e dolente, e nei casi gravi da febbre. Molto più complessa è la diagnosi di mastite sub-clinica, dove non sono presenti i sintomi della forma clinica ma, se si analizza il latte, ci sarà un innalzamento della concentrazione di cellule somatiche.

Due sono i cut-off utilizzati per diagnosticare ammalata una mammella o meglio un quarto. Secondo quanto stabilito dall'International dairy federation (Idf) nel 2013 il limite è quello delle 200.000 SC/ml. In Germania invece si ritiene essere di 100.000 SC/ml.

In allevamento è molto utile l'utilizzo del California mastitis test (CMT), che si basa su un reagente che distrugge le cellule somatiche esponendone il DNA, provocando così una flocculazione del latte. Il metodo utilizza un score da 0 a 3, ma in ogni caso non è in grado di rilevare un livello di SC < 300.000/ml. Più raffinati sono i contacellule portatili oppure quelli indiretti di misurazione attraverso la conducibilità elettrica del latte o l'enzima LDH. Il metodo che attualmente risulta il più diffuso è quello citofluorimetrico utilizzato negli strumenti di laboratorio che analizzano il latte sia di massa, che individuale. Questo metodo analitico ha una precisione molto elevata, se confrontato alla conta

microscopica delle cellule somatiche, almeno per i PMN e i linfociti.

Accanto a questi metodi c'è poi tutta la batteriologia del latte, che ha la funzione di individuare in esso la presenza di microrganismi più o meno patogeni.

Un'interessante opportunità è offerta dalla conta differenziale delle cellule somatiche (DSCC). Per cellule somatiche del latte s'intende la sommatoria di linfociti, neutrofili (PMN), macrofagi e cellule epiteliali di sfaldamento. La loro percentuale nel latte proveniente da una mammella sana è rispettivamente del 28%, 12% e 40%. Questi valori sono puramente indicativi, perché dipendenti dal numero di lattazioni, dai giorni dal parto e dal livello produttivo. L'unica certezza è che, in caso di mastite, si ha un aumento molto significativo dei PMN. I macrofagi appartengono al sistema immunitario innato cellulo-mediato. Nel latte hanno la fondamentale funzione di individuare i microrganismi e fagocitarli, esercitando una vera e propria funzione di "spazzini" degli alveoli mammari. Una volta fagocitato il batterio espongono i suoi antigeni sulla parete cellulare, permettendo ai linfociti (B) di produrre specifici anticorpi. Altra fondamentale funzione dei macrofagi è quella di richiamare, attraverso sostanze chemio-attraenti come le citochine, i PMN dal sangue per rendere più efficace e veloce la distruzione dei microrganismi per fagocitosi.

La grande evoluzione delle conoscenze della citofluorimetria a flusso, che ricordiamo essere una tecnica laser pensata per la biologia per il conteggio, la separazione e il rilevamento delle cellule, ha permesso di differenziare anche nel latte questi diversi tipi cellulari. Attraverso l'individuazione di due coloranti fluorescenti che legano il DNA si è ora in grado di quantificare la presenza dei linfociti e dei PMN. I macrofagi non vengono determinati, ma calcolati da un semplice "100 meno". Le potenzialità offerte da questa evoluzione analitica sono impressionanti, sia per la gestione delle mastiti sub-cliniche, che per la selezione genetica di bovine naturalmente più resistenti a questa patologia.

Dalle ricerche fin qui effettuate, anche se ancora scarse, si evidenziano due punti fondamentali. Il primo è che nel latte mastitico si riscontra un forte incremento dei PMN, che possono arrivare fino al 90% delle cellule somatiche del latte, e che i linfociti con l'aumentare della SCC diminuiscono proporzionalmente.

La DSCC è allo stato attuale poco diffusa, anche se inseribile in unità analitiche integrate che riescono ad analizzare fino a 19 parametri analitici in sei secondi. C'è forse ancora da fare, ossia un profondo lavoro di validazione, ma le prospettive offerte sono molto interessanti, in quanto la DSCC può essere inserita di diritto tra i biomarkers sanitari delle bovine da latte.

In Italia, ma a onore del vero in buona parte del mondo, le analisi del latte individuale vengono effettuate sulle bovine degli allevamenti che partecipano alla selezione genetica e per un numero limitato di parametri, come le percentuali di grasso e proteine e le cellule somatiche. I primi due parametri servono per la selezione, mentre le cellule somatiche individuali per la gestione sanitaria dell'allevamento. Gli allevamenti "non iscritti", che con la crisi dei finanziamenti pubblici a sostegno della selezione genetica sono destinati a ridursi di numero, non dispongono di molti di questi biomarker, a meno che dotati di sistemi analitici real-time in line come Afilab e Herd Navigator. I progressi della citofluorimetria a flusso e del MIR stanno invece offrendo ai professionisti e agli allevatori importanti informazioni sulla gestione sanitaria e zootecnica dell'allevamento. I parametri analitici del latte di massa danno poche informazioni in tal senso e comunque non supportano, né permettono decisioni operative, dando solo indicazioni di massima utili essenzialmente per il rispetto delle leggi e il pagamento a qualità del latte.

La DSCC del latte individuale apre quindi una grande possibilità applicativa, sia per la selezione genetica, che per la gestione delle mastiti sub-cliniche, ma va fatta una dovuta premessa. La pressione determinata dai pagamenti latte qualità e dal regola-

mento 853/2004 ha stimolato gli allevatori a intensificare l'igiene dell'allevamento e a eradicare quei batteri classificati come contagiosi. Inoltre, in moltissimi piani d'accoppiamento vengono scelti tori in grado di trasmettere alle figlie un minore contenuto di cellule somatiche. Questo ha permesso a molti allevatori di consegnare un latte con una conta leucocitaria più bassa e veder ridurre le bovine con cellule somatiche > 200.000/ml.

L'avvento della DSCC riapre però un antico dibattito sul fatto se sia proprio l'ideale puntare a un latte individuale con sempre meno cellule somatiche. È esperienza empirica d'allevamento il notare che una riduzione della prevalenza delle mastiti sub-cliniche spesso comporta un aumento delle forme cliniche, che spesso decorrono con inaudita gravità, esitando spesso nelle praticamente incurabili forme croniche. Non abbiamo purtroppo in Italia un

osservatorio epidemiologico delle mastiti cliniche, per cui ci dobbiamo basare sulle "sensazioni" d'allevamento.

La "vacca ideale" dovrebbe avere un'elevata presenza nel latte di macrofagi e una relativa bassa consistenza di linfociti e soprattutto neutrofili. Una vacca con questo identikit ha una mammella priva di patogeni, ma in grado di mettere in atto una rapida azione difensiva nei confronti di invasioni occasionali di batteri e quindi, sempre in teoria, in grado di reagire rapidamente e prontamente all'infezione, diminuendo il rischio di cronicizzazione. La selezione genetica basata sulla raccolta del fenotipo "cellule somatiche", non distinguendo tra macrofagi, linfociti e PMN, rischia di premiare geneticamente soggetti con una minore conta leucocitaria, ossia soggetti in grado di vivere senza ammalarsi solo in ambienti ultra-igienici e ovviamente in assenza di patogeni occa-

sionali, come i batteri classificati tra gli ambientali. Poter invece selezionare bovine che hanno un elevato livello "basale" di macrofagi permetterebbe di premiare bovine con un'ottimale linea difensiva "basale" del sistema immunitario cellulo-mediato.

Di grande interesse è anche l'applicazione della DSCC nella terapia selettiva in asciutta (SDCT), in quanto esiste una correlazione, ovviamente da approfondire, tra presenza di patogeni in mammella e componenti del sistema immunitario cellulo-mediato che aumentano la loro presenza in mammella solo in caso d'infezione. O almeno così dovrebbe essere. Questo permetterebbe al buiatra e all'allevatore di decidere con consapevolezza quali bovine trattare prima della messa in asciutta, evitando il laborioso e costoso esame batteriologico del latte individuale. È tuttavia da precisare che l'esame batteriologico è tuttora

il gold standard per la ricerca dei microrganismi. La riduzione all'indispensabile dell'uso degli antibiotici alla messa in asciutta (SDCT), in alternativa alla BTCT (blanket dry cow therapy), è una tecnica da acquisire rapidamente, ma allo stato attuale è di grande complessità. Le bovine in cui adottare la SDCT sono sicuramente quelle che non presentano mastite cronica, ossia che hanno una conta cellulare inferiore a 200.000 per tre controlli consecutivi e che non hanno alle spalle mastiti cliniche. L'esecuzione di un esame batteriologico classico in un laboratorio o i test on-farm come il Minnesota Easy Culture System nei giorni antecedenti all'asciutta danno maggiori garanzie alla SDCT. Una volta estesamente validata, la DSCC potrebbe essere un'alternativa rapida, economica e veloce all'esame batteriologico e aprire nuove possibilità nella diagnosi differenziale delle mastiti. •

Costruzioni per Agricoltura e Zootecnia

I.C.E.B.
F.lli PEVERONI

Costruzioni per impianti a Biogas







Via Dell'Artigianato, 19 - 25012 Calvisano (Bs) - Tel. 030 2131377 - Fax 030 9968968
info@icebfratellipeveroni.it - www.icebfratellipeveroni.it