



**SIPAOC**  
Società Italiana di Patologia e  
di Allevamento degli ovini e dei caprini



# GIORNATA DI STUDIO SIPAOC

## CELLULE SOMATICHE NEL LATTE OVINO E CAPRINO

### Valore discriminante delle cellule somatiche nel latte ovino

Grosseto, 8 Novembre 2013

dr. Carlo Boselli



## Le Cellule Somatiche

Elementi cellulari, presenti nel latte, di derivazione ematica (leucociti) o tessutale (cellule epiteliali).

**Leucociti:**

- granulociti polimorfonucleati
- macrofagi
- linfociti

**Cellule epiteliali:** Provengono dal rinnovamento del tessuto epiteliale della ghiandola mammaria

Tipi cellulari / Specie	Bovini	Ovini	Caprini
Macrofagi (%)	60-80	46-84	15-41
Linfociti (%)	10-30	11-20	9-20
PMN (%)	10-15	2-28	45-74
Cell.epiteliali (%)	2	2	1-6



## Le Cellule Somatiche

### significato

- leucociti: protezione della ghiandola mammaria contro agenti esterni.

### perché aumentano

- Processi infiammatori e infettivi, richiamano PMN in sede mammaria.

### cosa determina il loro aumento

- perdita di produzione;
- alterazione delle caratteristiche tecnologiche del latte;
- minor resa alla trasformazione;
- maggiori costi per trattamenti terapeutici e riforma degli animali;



## Cellule Somatiche: valori fisiologici nelle diverse specie

**Bovina:** valori inferiori alle 100.000 cell/mL sono considerati fisiologici in animali sani.

**Ovina:** i riferimenti bibliografici indicano valori fisiologici compresi da 200.000 – 1.500.000 cell/mL, anche se molti altri Autori individuano tale valore al di sotto delle 500.000 cell/mL (González-Rodriguez et al., 1995; Morgante et al., 1996; McDougall et al., 2001; Paape et al., 2001; Pengov, 2001; Gonzalo et al., 2002; Bergonier et al., 2003; Leitner et al., 2004; Rosati et al., 2004; Berthelot et al., 2006; Blagitz et al., 2008; Nunes et al., 2008).

**Caprina:** valori fisiologici compresi tra 500.000 e 1.500.000 cell/mL. sono indicati da numerosi Autori (Poutrel et al., 1983; De Crémoux et al., 1996; Contreras et al., 1996; McDougall et al., 2001; Haenlein, 2002; Moroni et al., 2005; Hall et al., 2007). Bronzo et al. (2008) ha determinato un valore di 846.000 cell./mL discriminante fra animali sani ed infetti, per contro Persson et al., (2011) ha calcolato un valore inferiore pari a 345.000 cell/mL.

**Bufalina:** in bibliografia sono indicati valori molto bassi: 50.000 - 100.000 cell/mL (Galiero et al., 2000); 100.000 – 200.000 cell/mL (Guccione 2013), 42.000 cell/mL (Dhakal, 2006)

**Asinina:** valori inferiori alle 50.000 cell/mL (Pilla et al., 2010), 22.000 cell/mL (Boselli et al., 2011).



## Valore discriminante: fonti di variabilità

### L'isolamento batteriologico

- latte di Ante Mungitura
- latte di Post Mungitura
- entrambe le frazioni

### L'unità secernente e il contenuto in CS della frazione di latte considerata

**Mammella**      =      latte individuale

**Emimammella**

- latte di Ante Mungitura
- latte di Post Mungitura
- latte ottenuto dalla Mungitura completa dell'emimammella



## Valore discriminante: le frazioni di latte utilizzate per le determinazioni analitiche e l'analisi statistica

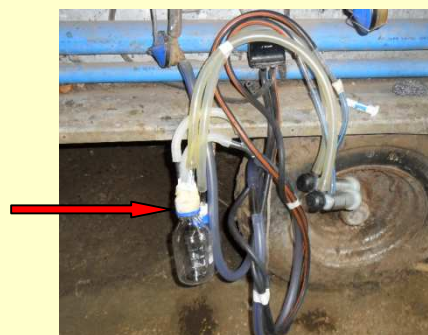
**Frazione di latte di ante e/o post mungitura:** prelevato sterilmente da ciascuna emimammella prima o dopo la mungitura.



**Frazione di latte individuale:** il latte estratto dalla mammella durante la mungitura meccanica viene misurato con un lattometro volumetrico o elettronico.



**Frazione di latte estratto dalla mungitura completa dell'emimammella:** il latte estratto da ciascuna emimammella durante la mungitura meccanica viene misurato con 2 lattometri volumetrici.



## Valore discriminante: protocollo operativo

Prelievo delle frazioni di latte di Ante e/o Post mungitura



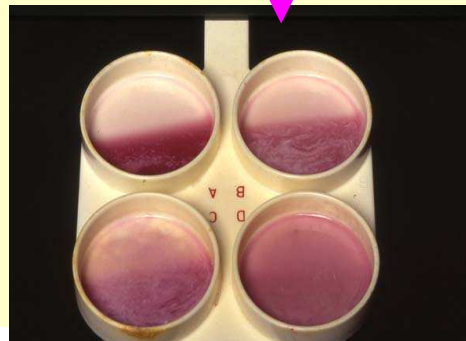
Esame batteriologico - (Gold Standard)

Cellule Somatiche (Metodo Indiretto)

Contacellule automatico



CMT



Vetrino

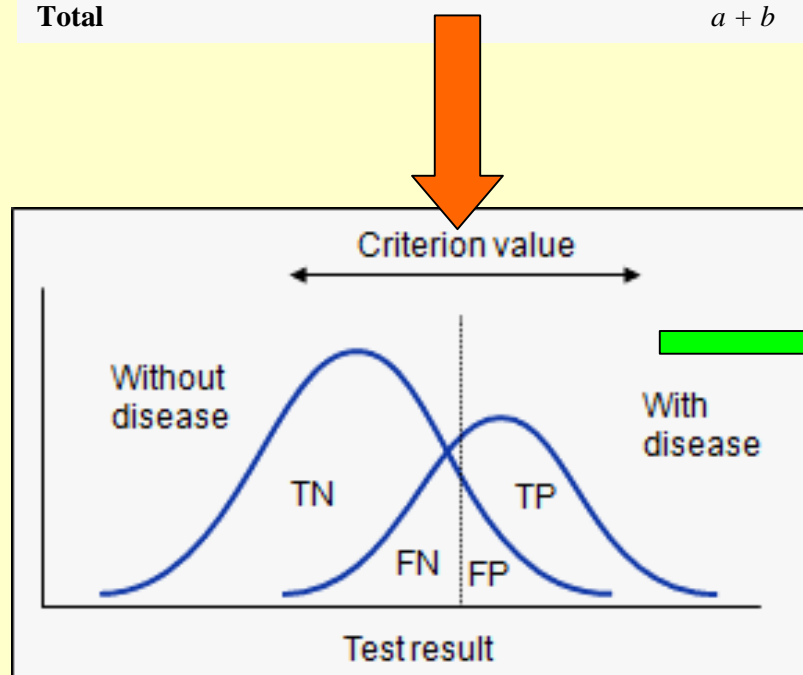




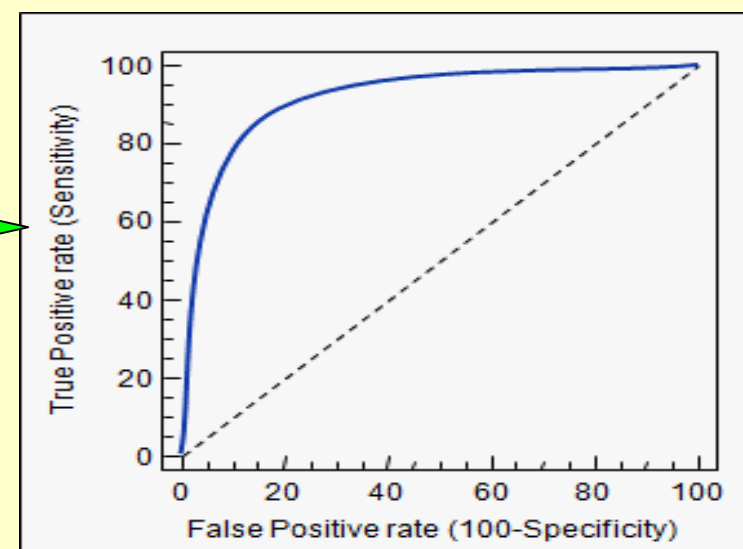
# Determinazione del Valore discriminante: MedCalc Software R.O.C. curve (Receiver Operating Characteristic)

## CLASSIFICAZIONE DEGLI ISOLAMENTI BATTERIOLOGICI

Test	Disease				Total
	Present	n	Absent	n	
Positive	True Positive (TP)	$a$	False Positive (FP)	$c$	$a + c$
Negative	False Negative (FN)	$b$	True Negative (TN)	$d$	$b + d$
Total		$a + b$		$c + d$	



### RAPPRESENTAZIONE GRAFICA

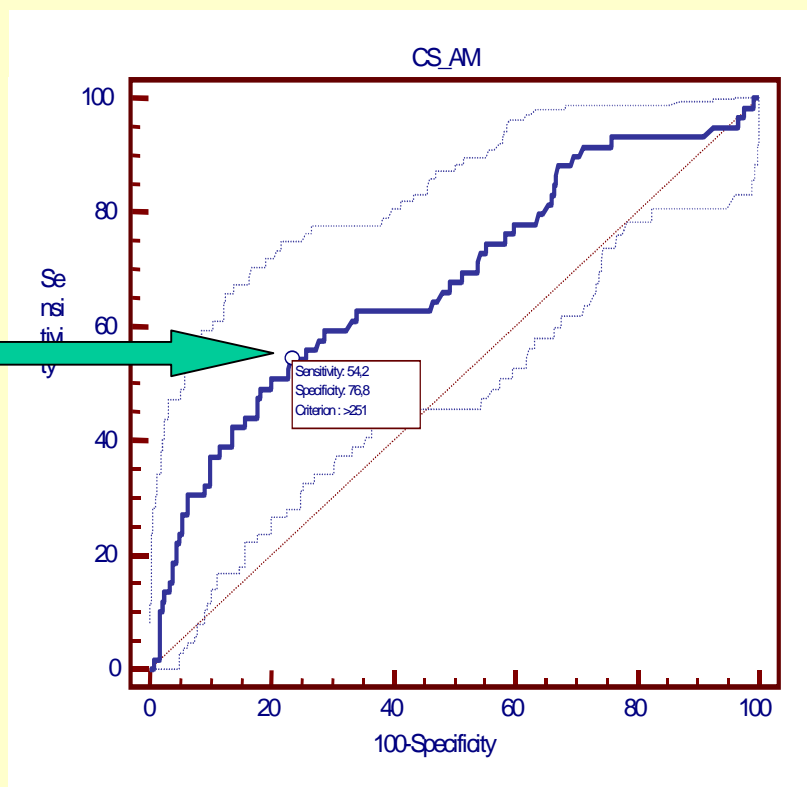


Curva ROC: sulla curva azzurra viene indicato il valore di cut-off più vantaggioso associato ai corrispettivi valori di Sensibilità e Specificità.

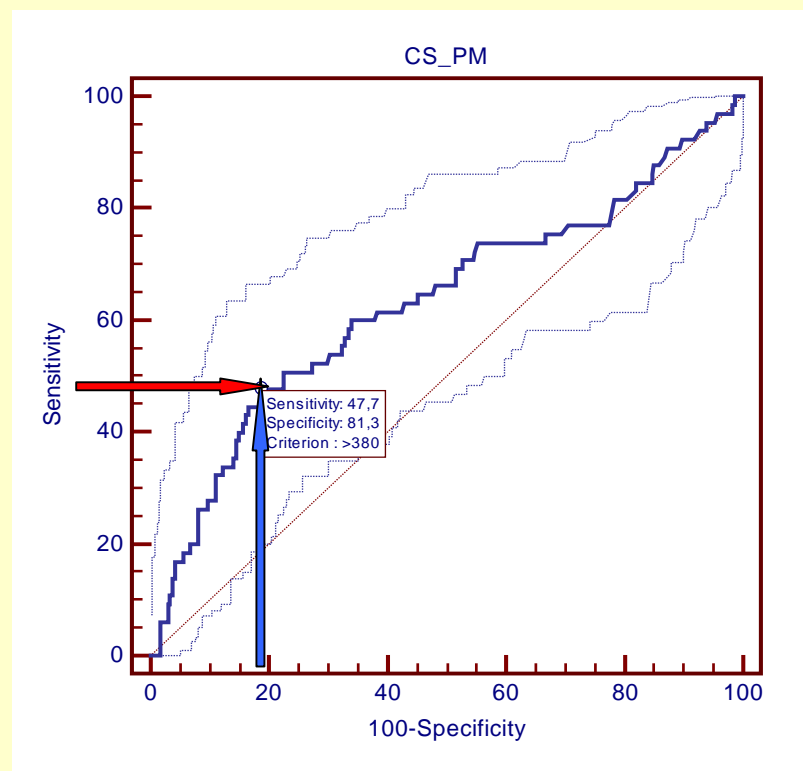




## Valore discriminante: proiezione di curve ROC su pecore di razza Lacaune



Frazione di latte di Ante Mungitura  
**AUC** (Area sottesa alla curva) =  $0,678 \pm 0,041$



Frazione di latte di Post Mungitura  
**AUC** (Area sottesa alla curva) =  $0,631 \pm 0,043$



## Valore discriminante "individuale" determinato con l'analisi R.O.C.

**ISOLAMENTO BATTERIOLOGICO:** frazione di latte di Ante Mungitura.

**CELLULE SOMATICHE:** determinato sul latte individuale (estratto durante la mungitura meccanica dalle 2 emimammelle).

RAZZA	Autore	CS cell/mL	Sensibilità %	Specificità %
*Arcott/Canadian	Ramanoon 1997	200.000	38	88
Sarda + Comisana	Rosati et al. 2004	265.000	30	86
Sarda	Rosati et al. 2004	268.000	58	46
Comisana	Rosati et al. 2004	271.000	48	69
** Pirlak	Ozenc et al. 2011	374.000	90,6	91,2
Valle del Belice	Riggio et al. 2013	645.000	48	86

\* Ile de France x Suffolk

\*\* Dağlıç x Kivircik



## Valore discriminante "individuale" determinato con l'analisi delle curve R.O.C.

Sono incluse nell'analisi statistica sia mammelle con infezione monolaterale sia mammelle con infezione bilaterale.

Nel caso di elevata prevalenza di infezioni monolaterali il valore di cut-off (cell/mL) ed i relativi valori di sensibilità e specificità ad esso associati possono essere meno precisi.

Il valore di cut-off ottenuto da Riggio et al. (2013), fra mammelle sane ed infette, per tutti i **patogeni isolati**, è risultato quello più "elevato" pari a 645.000 cell/mL.

Tale valore è risultato uguale a quello per animali positivi ad isolamento batteriologico solo per **patogeni minori**.

Mentre il valore di cut-off determinato per i **patogeni maggiori** è stato più elevato (2.138.000 cell/mL).



## Valore discriminante "emimammella" determinato con l'analisi delle curve R.O.C.

**ISOLAMENTO BATTERIOLOGICO:** frazione di latte di Ante e Post Mungitura.

**CELLULE SOMATICHE:** determinate sul latte di Ante Mungitura e Post Mungitura.

RAZZA	Autore	Ante Mungitura cell/mL	Post Mungitura cell/mL
<b>Sarda</b>	Boselli et al 2007	<b>96.000</b> (50.2% - 60.0%)	<b>181.000</b> (64.3% - 56.1%)
<b>Sopravissana</b>	Boselli et al 2008	<b>157.000</b> (68.7% - 50.8%)	<b>187.000</b> (92.6% - 52.2%)
<b>Lacaune</b>	Saraconi 2012 Tesi di laurea	<b>251.000</b> (54.2% - 76.8%)	<b>380.000</b> (47.7% - 81.3%)



## Valore discriminante "emimammella" determinato con l'analisi delle curve R.O.C.

Rispetto al valore discriminante determinato a livello "individuale", l'analisi statistica è più accurata in quanto ad ogni emimammella sia essa positiva o negativa ad isolamento batteriologico è associato il reale valore cellulare (viene ridotta la variabilità dovuta alle mammelle con isolamento batteriologico monolaterale)

Rispetto al valore discriminante determinato sulla mammella (individuale) il valore di cut-off (cell/mL) ed i relativi valori di sensibilità e specificità ad esso associati, determinati "sull'emimammella" con l'analisi R.O.C. sono più precisi.

I risultati ottenuti mostrano un ampio campo di variabilità (Range: 96.000 - 380.000 cell/ml), che risulta comunque inferiore alle 500.000 cell/mL riportate in bibliografia da numerosi Autori.



## Conclusioni

I valori discriminanti in CS determinati a livello "individuale" con l'analisi R.O.C. mostrano valori compresi tra 200.000 e 635.000 cell/mL.

I valori discriminanti in CS determinati a livello di "emimammella" con l'analisi R.O.C. nella frazioni di latte di Ante Mungitura risultano inferiori ai valori individuali.

I valori discriminanti determinati possono essere utilizzati come riferimento nei piani di profilassi delle mastiti.

Tali valori possono essere di ausilio al legislatore per fissare un eventuale limite di legge in CS nel latte di massa.





**GRAZIE PER L'ATTENZIONE .....**

