



S.I.P.A.O.C.

Società Italiana di Patologia e Allevamento
degli Ovini e dei Caprini



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri



**CENTRO DI REFERENZA
NAZIONALE PER LA QUALITÀ
DEL LATTE E DEI PRODOTTI
DERIVATI DAGLI OVINI E DAI CAPRINI**

NUMERO
SPECIALE

QUADERNI DI ZOOPROFILASSI

NUMERO 16 LUGLIO 2016

PERIODICO DELL'ISTITUTO
ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE
DELLE REGIONI LAZIO E TOSCANA

Atti della giornata di studio

Cellule somatiche nel latte ovino e caprino

8 novembre 2013



S.I.P.A.O.C.

Società Italiana di Patologia e Allevamento
degli Ovini e dei Caprini



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri



CENTRO DI RIFERENZA
NAZIONALE PER LA QUALITÀ
DEL LATTE E DEI PRODOTTI
DERIVATI DAGLI OVINI e dai CAPRINI



S.I.P.A.O.C.
Società Italiana di Patologia e Allevamento
degli Ovini e dei Caprini



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri



CENTRO DI RIFERENZA
NAZIONALE PER LA QUALITÀ
DEL LATTE E DEI PRODOTTI
DERIVATI DAGLI OVINI E DAI CAPRINI

Atti della giornata di studio

Cellule somatiche nel latte ovino e caprino

8 novembre 2013

Centro Congressi
Fattoria La Principina
via San Rocco, 465
58100 Principina Terra (GR)

Hanno collaborato alla realizzazione del seminario:

FOSS ITALIA S.p.A.

CASEIFICIO SOCIALE DI MANCIANO Soc. Agr. Coop.

Indice

Introduzione	pag. 07
Valore discriminante delle cellule somatiche nel latte ovino	pag. 09
Relazione tra patogeni della mammella e cellule somatiche nel latte ovino e caprino	pag. 15
Relazione tra la morfologia dell'apparato mammario e le infezioni mastitiche	pag. 24
Valutazione della ghiandola mammaria nella pecora	pag. 37
Cellule somatiche: qualità del latte e dei derivati ovicaprini	pag. 42
Situazione francese riguardo al contenuto in cellule somatiche nel latte di pecora	pag. 50
Influenza dell'alimentazione sul contenuto in cellule somatiche nel latte ovino e caprino	pag. 53
Relazione tra produzioni latte e cellule somatiche	pag. 58
Infezioni mammarie e benessere animale	pag. 67

Comitato organizzatore

Presidente **Antonello Carta**

Componenti **Remo Rosati**
Simonetta Amatiste
Antonella Bozzano
Giovanni Filippini
Bruno Ronchi
Gilberto Giangolini
Francesco Filippetti

Introduzione

Questa giornata di studio della Società Italiana di Patologia e Allevamento degli Ovini e dei Caprini, intermedia ai convegni, è dedicata al tema delle cellule somatiche nel latte ovino e caprino.

La tematica è stata oggetto di vivaci discussioni all'interno del XX Congresso della SIPA-OC, nel quale è emersa la necessità di organizzare un evento specifico con l'obiettivo di tracciare lo stato dell'arte a 20 anni di distanza dal Congresso di Bella (PZ), che fece a suo tempo il punto delle conoscenze scientifiche sull'argomento. Le conclusioni scaturite da quel Congresso riguardarono l'adozione di un valore soglia unico per i piccoli ruminanti di 1.500.000 cell/ml.

Dal 1994 ad oggi sono stati effettuati numerosi studi a livello nazionale ed internazionale che hanno riguardato il valore fisiologico delle cellule somatiche, approfondito le cause del loro aumento e indagato sulle conseguenze che questo aumento determina sui processi tecnologici per la produzione dei derivati del latte.

L'attività di ricerca eseguita in questi anni ha anche evidenziato l'elevata variabilità che si può riscontrare sul numero delle cellule somatiche nel latte individuale e di massa durante la lattazione, in relazione ai numerosi fattori che influenzano tale parametro.

E' necessario quindi dedicare una giornata di studio che fornisca ai tecnici del settore, agli allevatori ed al legislatore i risultati delle ricerche effettuate.

Nella giornata vengono discusse le nuove conoscenze scientifiche nel campo delle relazioni tra cellule somatiche e mastiti e le possibilità di utilizzare nuovi strumenti diagnostici per le mastiti sub-cliniche.

Un altro argomento importante è la valutazione delle strategie di profilassi e controllo delle mastiti anche in termini di impatto sulla gestione e redditività degli allevamenti.

Presidente SIPAOC
Dott. Antonello Carta

Direttore Generale f.f. IZS Lazio e Toscana
Dott. Remo Rosati

Valore discriminante delle cellule somatiche nel latte ovino

Carlo Boselli

Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana Mariano Aleandri,
Via Appia Nuova, 1411 – 00178 Roma
Centro di Referenza Nazionale per la Qualità del Latte e dei Prodotti Derivati
degli Ovini e dei Caprini (C.Re.L.D.O.C.)

INTRODUZIONE: fra i numerosi fattori che condizionano gli aspetti igienico-sanitari degli allevamenti da latte, il principale è la mastite che costituisce una delle principali cause di perdita produttiva, di modifica della caratteristiche chimico fisiche e tecnologiche del latte e di riforma degli animali, rappresentando una considerevole voce di costo per l'allevatore.

Per il monitoraggio della mastite, in particolare nelle forme subcliniche, il parametro indiretto maggiormente utilizzato nella diagnosi è rappresentato dal conteggio delle cellule somatiche del latte, grazie alla rapidità, alla economicità e soprattutto alla affidabilità del test impiegato.

Sebbene il contenuto in cellule somatiche sia dipendente da numerosi fattori quali lo stato di lattazione, il numero dei parti, la frequenza di mungitura, la stagione etc., è comunemente accettato che valori fisiologici in cellule somatiche prossimi a 100.000 cell. som./mL, nella bovina da latte, discriminano fra quartieri sani ed infetti (Schwarz et al., 2010). In questa specie da latte, il contenuto in cellule somatiche, può essere impiegato sia come metodo diagnostico sia come criterio di selezione nei programmi di miglioramento genetico per la resistenza alle mastiti (Colleau and Le Bihan-Duval, 1995).

Anche per la specie bufalina sono indicati valori simili, compresi fra 42.000 cell. som./mL (Dhakal, 2006), 50.000 - 100.000 cell. som./mL (Galiero et al., 2000) e 100.000 – 200.000 cell. som./mL (Guccione 2013).

Nella capra sono indicati valori fisiologici compresi tra 500.000 e 1.500.000 cell. som./mL. (Contreras et al., 1996; McDougall et al., 2001; Moroni et al., 2005). Per contro Bronzo et al. (2008) e Persson et al., (2011) hanno ottenuto valori inferiori rispettivamente di di 846.000 e 345.000 cell. som./mL.

Per la specie ovina numerosi Autori hanno individuato valori al di sotto delle 500.000 cell. som./mL (González-Rodríguez et al., 1995; McDougall et al., 2001; Paape et al., 2001; Pengov, 2001; Bergonier et al., 2003; Leitner et al., 2004; Rosati et al., 2004; Berthelot et al., 2006; Blagitz et al., 2008).

I diversi valori fisiologici in cellule somatiche, ottenuti negli studi sugli ovini da latte, sono anche da attribuire alle diverse unità secernenti (emimammella, mammella) e alle frazioni di latte (antemungitura, postmungitura) considerate.

L'Obiettivo di questo lavoro è stato di applicare la metodologia Receiver Operating Characteristics curves (R.O.C.) per valutare la capacità diagnostica del conteggio in Cellule Somatiche nel discriminare emimammelle infette da quelle sane in alcune razze ovine allevate nella regione Lazio.

MATERIALI E METODI: dal 2005 al 2012, sono stati prelevati campioni di latte appartenenti a pecore di razza Sarda (n = 1.576), di razza Sopravvissana (n = 668) e di razza Lacaune (n = 590), per ogni animale da ciascuna emimammella, nella frazione di latte di antemungitura e post mungitura.

Su ciascun campione è stata eseguita l'analisi batteriologica (National Mastitis Council, 2004) e successivamente l'analisi citologica mediante apparecchiatura automatica a citometria di flusso (Fossomatic 5000 – Foss Electric).

In relazione all'esito dell'esame batteriologico (Gold Standard) ciascuna frazione di latte è stata classificata in positiva (esame batteriologico positivo) o negativa (esame batteriologico negativo) e ad essa è stato associato il relativo contenuto in cellule somatiche.

Per determinare il valore in Cellule Somatiche discriminante o di cut-off, fra emimammelle sane ed infette è stato utilizzato il SW MedCalc (version 12 - © 1993-2013 MedCalc Software bvba), utilizzando la metodologia R.O.C. (DeLong et al., 1988). L'area sottesa alla curva AUC (Area Under the Curve) è stata stimata mediante approccio non parametrico utilizzando i valori di Sensibilità (Se) (%) e Specificità (Spe) (%) ottenuti sulla base dei valori osservati in positivi e negativi al test batteriologico.

RISULTATI E DISCUSSIONE: tra i germi ambientali isolati gli Stafilococchi Coagulasi Negativi sono risultati la specie batterica prevalente in tutte le razze studiate: Sarda (61,6%), Sopravvissana (74,4%) e Lacaune (47,6%), rispetto a *Bacillus* spp risultati per la Sarda (32,9%), Sopravvissana (8,5%) e Lacaune (22,2%).

Per i germi contagiosi è stato isolato soltanto *Staphylococcus aureus* nella razza Sarda (1,1%) e nella razza Lacaune (8,7%).

I valori discriminanti o di cut-off ottenuti con i rispettivi valori di Sensibilità e Specificità ad essi associata sono elencati nella tabella 1.

Il range di cellule somatiche oscilla da un valore minimo di 96.000 cell. som./ml., determinato sulla razza Sarda nella frazione di latte di ante mungitura, ad un valore massimo di 380.000 cell. som./ml, determinato sulla razza Lacaune nella frazione di latte di post-mungitura (Fig.1).

Razza	Latte di Antemungitura CS (n°/mL) Se (%) - Spe (%)	Latte di Postmungitura CS (n°/mL) Se (%) - Spe (%)
Sarda	96.000 (50,2% - 60,0%)	181.000 (64,3% - 56,1%)
Sopravissana	157.000 (68,7% - 50,8%)	187.000 (92,6% - 52,2%)
Lacaune	251.000 (54,2% - 76,8%)	380.000 (47,7% - 81,3%)

Tabella 1. Valori di cut-off determinati nella frazioni di latte e per le razze studiate.

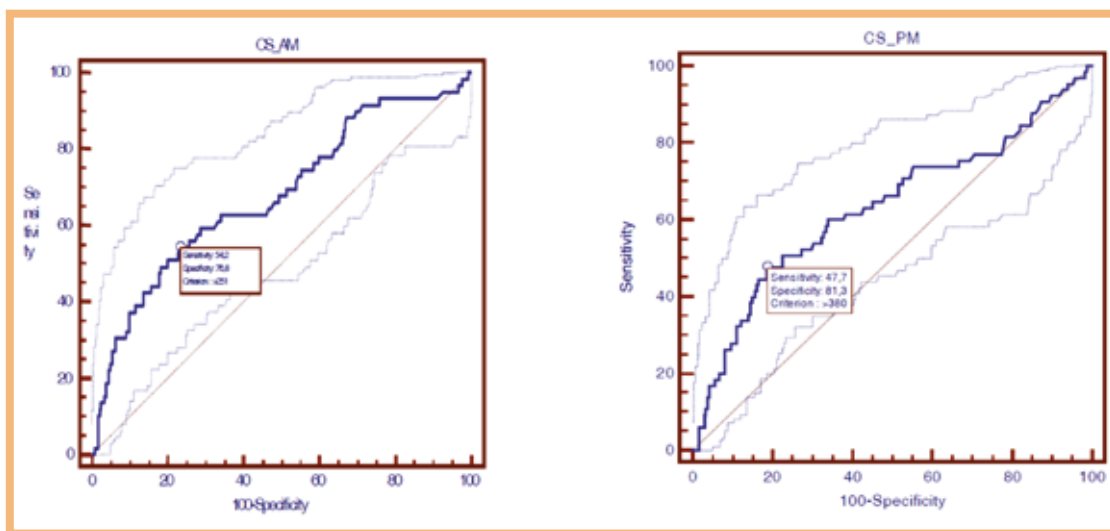


Figura 1. Valori di cut-off determinati su pecore di razza Lacaune: proiezione di curve ROC nelle frazioni di latte di ante mungitura (sinistra) e post mungitura (destra).

I valori di cut-off ottenuti, sono risultati sempre superiori nella frazione di latte di post mungitura rispetto a quella di ante mungitura per ciascuna razza studiata. Relativamente agli studi condotti sull'emimammella, Gonzales Rodriguez et al. (1995) riportano, in uno studio su diverse razze ovine (Assaf, Churra e Castellana) un valore discriminante medio di 300.000 cell. som./ml con una sensibilità dell'80,0% ed una specificità dell'82,0%. I valori riscontrati per le razze Assaf e Catellana sono risultati

maggiori di quello riscontrato nella razza Churra (400.000 vs 200.000 cell. som./ml) (vedi tabella 2).

In un'altro studio condotto su campioni di emimammella da pecore di razza Pirlak, Ozenc et al., (2011) hanno ottenuto un valore di cut-off pari a 374.000 cell. som./ml con valori di sensibilità e specificità rispettivamente di 91,2% e 90,6% (vedi tabella 2).

Dagli studi condotti nella determinazione dei cut-off a livello individuale, utilizzando come gold standard l'isolamento batteriologico in ante-mungitura, sono stati ottenuti valori in cellule somatiche compresi fra 200.000 e 645.000 cell. som./mL (tab. 2).

RAZZA	Autore	Unità Secernente	C. S. cell. som./mL%	Sensibilità %	Specificità %
Assaf, Castellana, Churra	Gonzales Rodriguez 1995	Emimammella	300.000	80	82
Pirlak	Ozenc et al. 2011	Emimammella	265.000	91,2	90,6
Arcott/Canadian	Ramanoon 1997	Mammella	200.000	38	88
Sarda + Comisana	Rosati et al. 2004	Mammella	265.000	30	86
Sarda	Rosati et al. 2004	Mammella	268.000	58	46
Comisana	Rosati et al. 2004	Mammella	271.000	48	69
Valle del Belice	Riggio et al. 2013	Mammella	645.000	48	86
Valle del Belice	Tolone et al. 2014	Mammella	427.000	59	81
Awassi	MO Alekish 2014	Mammella	220.000 260.000	99 99	79 98

Tabella 2. Valori di cut-off determinati a livello di emimammella ed individuale per alcune razze ovine.

I valori riscontrati nell'analisi statistica includono mammelle con infezione monolaterale e bilaterale.

Nel caso di elevata prevalenza di infezioni monolaterali il valore di cut-off ed i relativi valori di sensibilità e specificità ad esso associati possono essere meno accurati.

Il valore di cut-off individuale più elevato, ottenuto su pecore di razza Valle del Belice da Riggio et al. (2013), fra mammelle sane ed infette, per tutti i patogeni isolati, è risultato di 645.000 cell. som./mL. Dallo stesso studio è emerso un valore di cut-off, determinato solo considerando i patogeni maggiori, di 2.138.000 cell. som./mL.

Conclusioni: la determinazione del valore discriminate, ottenuto da campioni di latte di emimammella rispetto a quelli individuali, è più accurata, in quanto ad ogni emimammella sia essa positiva o negativa ad isolamento batteriologico è associato il reale valore cellulare, infatti tale valore non è influenzato dal possibile effetto diluizione nei casi di infezione monolaterale.

I risultati ottenuti nel presente studio, dalle tre razze considerate, mostrano valori più bassi in ante mungitura (range: 96.000 – 251.000 cell/ml) rispetto a quelli ottenuti in post mungitura (range: 181.000 – 380.000 cell/ml).

I valori di cut-off determinati possono essere utilizzati come riferimento nei piani di profilassi delle mastiti, e di ausilio al legislatore per fissare un eventuale limite di legge in cellule somatiche latte di massa.

Riferimenti bibliografici

- Alekish M. O., Musa A. Alshehabat, Sameeh M. Abutarbush,
The prevalence and etiology of subclinical mastitis in awassi sheep; emphasis on the relationship between the isolated organisms and the somatic cell count, *European Journal of Veterinary Medicine*, Vol 2014 (2014), Article ID 8
- Bergonier D, Cremoux RD, Rupp R, Lagriffoul G, Berthelot X, 2003
Mastitis of dairy small ruminants. *Vet Res* 34, 689–716.
- Berthelot X, Lagriffoul G, Concordet D, Barillet F, Bergonier D, 2006
Physiological and pathological thresholds of somatic cell count in ewe milk. *Small Ruminant Res* 62, 27–31.
- BLAGITZ, M.G.; BATISTA, C.F.; SOUZA, F.N. et al.
Perfil celular e microbiológico do leite de ovelhas Santa Inês no período lactante e pós-desmame. *Pesq. Vet. Bras.*, v.28, p.417-422, 2008.
- Boselli C., Amatiste S., Giangolini G., Filippetti F., Tammaro A., Giacinti G., Rosati R.
Discriminant value of somatic cell count in premilking and postmilking between infected and uninfected half-udders Sarda ewe milk. 15th International Congress of Mediterranean Federation for Health and Production of Ruminants, 15-19 May 2007 Kusadasi, Turchiye.
- Bronzo V., Scaccabarozzi L., Locatelli C., Casula A., Zanatta G. (2008).
Infezioni mammarie e contenuto in cellule somatiche in allevamenti di capre da latte lombardi. *Atti del XVIII Congresso Nazionale SIPAOC, Large Animal Review* 14 (Suppl 4): 155.
- Colleau JJ, Bihan-Duval EL.
A simulation study of selection methods to improve mastitis resistance of dairy cattle cows. *J Dairy Sci.* 1995;78:659–671.
- Contreras, A., C. Luengo, A. Sanchez and J.C. Corrales, 2003
The role of intramammary pathogens in dairy goats. *Livestock Prod. Sci.*, 79: 273-283.
- Dhakal, I. P. (2006).
Normal Somatic Cell Count and Subclinical Mastitis in Murrah Buffaloes. *Journal of Veterinary Medicine, Series B, Vol 53, Issue 2*, pages 81–86, March 2006
- De Long ER, DeLong DM, Clarke-Pearson DL (1988)
Comparing the areas under two or more correlated receiver operating characteristic curves: a nonparametric approach. *Biometrics* 44:837-845.
- GALIERO, G.; MORENA, C.
The meaning of the somatic cell count in buffalo milk. *Bubalus bubalis*, v.1, p.26-27, 2000.
- Gonzalez-Rodriguez, M.C., Gonzalo, C., San-Primitivo, F., Cármenes, P., Rodriguez, M.C.G.
Relationship between somatic cell count and intramammary infection of the half udder in dairy ewes. *J. Dairy Sci.* 1995;78:2753–2759.

- Guccione, Jacopo (2013)
Clinical and diagnostical aspects in dairy mediterranean buffalo mastitis. [Tesi di dottorato]
- Leitner, G., U. Merlin and N. Silanikova. 2004.
Changes in milk composition as affected by subclinical mastitis in goats. *J Dairy Sci.* 87:1719-1726.
- McDougall S, Pankey W, Delaney C, Barlow J, Murdough PA, Scruton D, 2002
Prevalence and incidence of subclinical mastitis in goats and dairy ewes in Vermont, USA. *Small Ruminant Res* 46, 115–121.
- Moroni P, Pisoni G, Ruffo G, Boettcher PJ
Risk factors for intramammary infections and relationship with somatic-cell counts in Italian dairy goats. *Prev Vet Med.* 2005, 69 (3-4): 163-173.
- Ozenc, E., Seker, E., Baki Acar, D., Birdane, M., Darbaz, I. and Dogan, N. (2011)
The Importance of Staphylococci and Threshold Value of Somatic Cell Count for Diagnosis of Sub-clinical Mastitis in Pirlak Sheep at Mid-lactation. *Reproduction in Domestic Animals*, 46: 970–974. doi: 10.1111/j.1439-0531.2011.01768.
- Paape, M. J., B. Poutrel, A. Contreras, J. C. Marco., and A. V. Capuco. 2001.
Milk somatic cells and lactation in small ruminants. *J Dairy Sci* 84:E237-E244
- Pengov A., 2001
The role of coagulase-negative Staphylococcus spp. and associated somatic cell counts in the ovine mammary gland. *J Dairy Sci* 84, 572–574.
- Persson Y., Olofsson I.
Direct and indirect measurement of somatic cell count as indicator of intramammary infection in dairy goats. *Acta Vet. Scand.*, 53 (2011), p. 15
- Ramanoon S. (1997).
Ovine intramammary infection in an accelerated lambing system. A thesis presented to the Faculty of Graduated Studies, University of Guelph.
- Riggio, V., Pesce, L.L., Morreale, S., Portolano, B., 2013.
Receiver-operating characteristic curves for somatic cell scores and California mastitis test in Valle del Belice dairy sheep. *Vet. J.* 196, 528–532.
- Rosati R., Militello G., Boselli C., Giangolini G., Amatiste S., Brajon G., Gazzoni S., Casini M., Scatassa M., Bono P., Cannas A., Mugoni G., Simula M., Denti G., Gradassi S., Fagiolo A., (2005).
Cellule somatiche nel latte ovino e caprino: definizione del valore medio nazionale e del valore fisiologico. *Scienza e Tecnica Lattiero Casearia*, 56 (3).
- D. Schwarz, U.S. Diesterbeck, K. Failing, S. König, K. Brügemann, M. Zschöck, W. Wolter, C.-P. Czerny. Somatic cell counts and bacteriological status in quarter foremilk samples of cows in Hesse, Germany—A longitudinal study. *J. Dairy Sci.*, 93 (2010), pp. 5716–5728
- Tolone, M., Scatassa, M.L., Mancuso, I., Miraglia, V., & Portolano, B. (2013).
Cellule somatiche in latte ovino: analisi e applicazione delle curve ROC. In XX Congresso Nazionale SIPAOC (pp.47-47).
- Web site [_www.medcalc.org](http://www.medcalc.org)

Relazione tra patogeni della mammella e cellule somatiche nel latte ovino e caprino

Cannas E.A.¹, Dore S.¹

¹Centro di Referenza Nazionale per le Mastopatie degli Ovini e dei Caprini – Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna. Via Duca degli Abruzzi 8, 07100-Sassari

La mastite rappresenta il più importante problema sanitario nei piccoli ruminanti destinati alla produzione di latte e la principale causa di perdite economiche per la riduzione e lo scadimento della qualità delle produzioni. Può, inoltre, costituire un problema di sanità pubblica a causa dell'uso improprio di antibiotici potenzialmente responsabile di presenza di residui nel latte e sviluppo di antibiotico resistenza batterica. Questa patologia è costituita dal processo infiammatorio della ghiandola mammaria, condizionato da diversi fattori predisponenti di natura individuale (conformazione mammaria, età della pecora, difese locali, alimentazione) ed ambientale (impianto mungitura, igiene mungitura, igiene della lettiera ecc.) e da fattori scatenanti, caratterizzati prevalentemente da infezioni batteriche.

Batteri responsabili di mastiti nei piccoli ruminanti

Nelle mastiti i microrganismi responsabili sono prevalentemente costituiti da batteri che, a seconda della loro origine, possono essere distinti in:

– **batteri patogeni contagiosi:** presenti nella mammella infetta, generalmente sopravvivono con difficoltà nell'ambiente. Si diffondono tra gli animali con le procedure di mungitura attraverso la mungitrice meccanica. I principali batteri patogeni contagiosi sono: *Staphylococcus aureus*, *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Corynebacterium* spp., *Arcanobacter pyogenes* e micoplasmi. *Staphylococcus aureus* è il più importante agente mastidogeno contagioso della mammella. Produce diverse tossine coinvolte nella patogenesi della mastite ed enterotossine causa di tossinfezioni alimentari; può essere responsabile di mastiti di diverso grado di gravità a partire dalla mastite gangrenosa, con perdita funzionale della mammella e interessamento sistemico che può esitare con la morte dell'animale, alla mastite parenchimatosa acuta che può evolvere nella forma cronica, alla dermatite pustolosa che può rappresentare la premessa per l'insorgenza della mastite stafilococcica e, infine, a forme di mastite subclinica.

– **batteri ambientali:** sono ubiquitari, presenti nel tratto gastro-intestinale, nel suolo, nell'acque e nelle lettiere. Moltiplicandosi nelle guaine degli impianti di mungitura favoriscono il diffondersi dell'infezione fra gli animali. Possono dar luogo a quadri clinici di diversa gravità, da mastiti acute, con febbre, depressione, anoressia e morte degli animali nei casi più gravi, fino a mastiti croniche, con presenza di noduli e ispessimenti del tessuto mammario, riduzione del volume dell'emi-mammella interessata con conseguente diminuzione della produzione del latte; possono, inoltre, essere riscontrate forme asintomatiche individuabili esclusivamente mediante esami di laboratorio. I principali batteri ambientali responsabili di mastite negli ovini e caprini da latte sono: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxitoca*, *Enterobacter* spp, *Serratia* spp, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus* spp, *Streptococcus disgalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Bacillus* spp (*Bacillus cereus*).

– **batteri opportunisti:** sono microrganismi che costituiscono la flora microbica cutanea degli animali. Definiti da molti autori come patogeni minori (Bergonier, 2003) sono però i maggiori responsabili delle mastiti subcliniche con effetti negativi sulle produzioni. I principali batteri appartenenti a questa categoria sono rappresentati dagli stafilococchi coagulasi negativi (SCN), in particolar modo *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus chromogenes* e *Staphylococcus haemolyticus* che, essendo dotati di patogenicità variabile, possono causare quadri clinici diversi. *Staphylococcus epidermidis* rappresenta la specie più frequentemente isolata fra gli SCN (Dore 2014); la sua patogenicità varia in rapporto alla presenza o meno di *marker* di patogenicità (Simojoki, 2012) e spesso è associato a valori elevati di contenuto in cellule somatiche (CCS) nel latte.

– **altri microrganismi:** sono coinvolti in modo meno frequente e talvolta possono causare malattia nell'uomo. I principali sono: *Listeria* spp, *Streptococcus zooepidemicus* (Las Heras, 2002) nella capra, la *Nocardia farcinica* (Maldonado, 2004) e *Aspergillus fumigatus*.

I microrganismi invadono la mammella superando le difese naturali, si moltiplicano nei tessuti secernenti ed alcuni sintetizzano tossine che sono la causa diretta della lesione. A questo punto, si scatena una serie di eventi che determinano l'instaurarsi del processo infiammatorio noto come mastite.

A seconda della rapidità d'insorgenza, della durata e delle lesioni provocate si distinguono i seguenti tipi di mastite:

– **mastite clinica acuta/iperacuta:** l'evoluzione della malattia è molto rapida e si osservano diversi gradi di alterazione del tessuto mammario, che appare modificato all'esame ispettivo e alla palpazione, con interessamento dei linfonodi sopramammari e del secreto mammario macroscopicamente alterato (acquoso, coaguli, fiocchi). Oltre i classici sintomi clinici dell'infiammazione locale si possono osservare sintomi

di risentimento generale come febbre, brividi, orripilazione, depressione e anoressia. Spesso queste forme hanno esito letale con perdita della mammella, conseguente a setticemia e/o tossiemia (i.e. mastite gangrenosa). Responsabili di questo tipo di mastite sono generalmente *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*.

– **mastite clinica subacuta/cronica:** caratterizzata da sintomatologia a carico della mammella di solito in assenza di risentimento generale. I principali agenti eziologici appartengono al genere *Streptococcus* (*Streptococcus dysgalactiae* e *Streptococcus uberis*). Nelle mastiti cliniche sub-acute si riscontrano alterazioni nel latte come fiocchi, coaguli e/o aspetto acquoso del latte, mentre sono lievi o assenti dolore e aumento di temperatura della ghiandola.

– **mastite clinica cronica:** si tratta di un processo infiammatorio che persiste per molti mesi anche da una lattazione all'altra. Può assumere l'aspetto di forma sub-clinica con riacutizzazioni periodiche e con sintomi di mastite acuta o sub-acuta che regredisce fino alla forma sub-clinica.

– **mastite subclinica:** è una forma di mastite nella quale non sono presenti compromissioni della mammella visibili all'esame clinico e non si osservano alterazioni macroscopiche nel latte; si caratterizza per l'aumento del CCS (soprattutto granulociti neutrofili) al di sopra dei livelli fisiologici, aumento del pH causato dal passaggio di cloruro e bicarbonato di sodio dal sangue al latte e aumento di enzimi (NAGasi). Sono mastiti causate prevalentemente da SCN e possono persistere per diverse lattazioni. I soggetti con mastite subclinica rappresentano "serbatoi" di microrganismi che possono diffondere l'infezione agli animali sani.

Come si difende la mammella?

I meccanismi di difesa della mammella sono costituiti dalle sue caratteristiche anatomiche (strato corneo, sfintere del capezzolo, tappo di cheratina), dalla componente umorale (lattoferrina, lisozima e NAGasi) e da fattori cellulari.

Le cellule somatiche nel latte rappresentano la componente cosiddetta cellulare dei meccanismi di difesa della mammella verso le infezioni.

Le sottopopolazioni cellulari sono costituite da cellule epiteliali, che derivano direttamente dalla mammella, e da cellule del sistema immunitario, rappresentate principalmente da macrofagi, linfociti e granulociti neutrofili polimorfo-nucleati (PMN), di provenienza ematica:

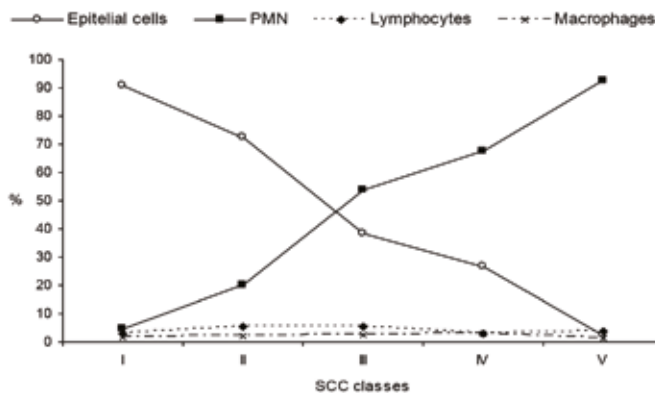
– **Macrofagi:** svolgono il ruolo di sentinella nei confronti dell'ingresso di batteri nella mammella; sono in grado di fagocitare microrganismi e presentarne gli antigeni sulla superficie. Secernono citochine regolatorie del processo infiammatorio, in particolare IL-1, TNF-, IL-8, IL-6.

– **Cellule epiteliali:** sono costituite da cellule di sfaldamento derivate dal normale turn-over cellulare o dal danneggiamento dell'epitelio mammario. Esprimono l'antigene MHC II; sono in grado di legare antigeni batterici e presentarli ai linfociti T e di produrre citochine pro-infiammatorie (IL-8) in seguito ad infezione.

– **Granulociti neutrofilici polimorfo-nucleati:** hanno origine nel midollo osseo e, successivamente, vengono rilasciati nel torrente circolatorio per poi migrare nei tessuti. Sono le cellule più numerose nelle mammelle infette e, specializzate nella fagocitosi, svolgono un ruolo essenziale nella risoluzione dell'infezione; la loro vitalità è di circa 24-48 ore (International Dairy Federation, 2003). A causa dell'ingestione dei globuli di grasso e della minor presenza di opsonine nel latte, la fagocitosi a livello mammario appare meno efficiente, per questo motivo è necessario un numero maggiore di PMN nel latte rispetto al sangue. Sono state evidenziate correlazioni positive fra CCS e numero di PMN che diventano predominanti nelle classi di cellule >1.000.000 cellule/ml (Figura 1)(Dore 2011).

– **Linfociti.** I linfociti B si trasformano in plasmacellule e producono gli anticorpi mentre i linfociti T sono rappresentati da: T helper-CD4, che modulano la risposta immunitaria umorale e cellulo-mediata attraverso la produzione di citochine, e T citotossici (CD8) che posseggono un'attività citolitica diretta verso antigeni specifici.

Figura 1. distribuzione percentuale delle popolazioni cellulari in rapporto alle diverse classi di CCS nel latte ovino. (Dore, 2011)



SCC Class	Value (cell/ml*1000)
I	<300
II	301-500
III	501-1000
IV	1001-2000
V	>2000

In presenza di infezioni a carico della mammella variano soprattutto le cellule coinvolte nella risposta immunitaria. Con la conta differenziata delle cellule somatiche nel latte è possibile distinguere le variazioni delle diverse sottopopolazioni cellulari in rapporto allo stato di salute della mammella (Cuccuru, 1997); infatti, il numero e la proporzione fra le diverse componenti cellulari varia notevolmente in funzione delle condizioni fisiologiche o patologiche degli animali.

CCS nel latte di massa

Il valore di CCS nel latte di massa rappresenta un indicatore importante per stimare la prevalenza di emi-mammelle infette all'interno dell'allevamento e fornisce, inoltre, importanti informazioni sul livello di capacità gestionale degli operatori zootecnici. Si tratta di un parametro che può variare notevolmente nel tempo, anche da un giorno all'altro, in rapporto al numero di animali affetti da mastite e allo stadio dell'infezione. In letteratura sono riportati dei metodi di valutazione che, basandosi sul contenuto di cellule somatiche del latte di massa, sono in grado di stimare la diffusione delle mastiti in allevamento. (Lagriffoul, 1999)

Solo per la specie bovina la normativa comunitaria sulla sicurezza alimentare (Regolamento CE n. 853/2004) stabilisce il valore limite di CCS di 400.000 cellule/ml espresso come media geometrica dei valori riferiti ad un prelievo al mese per 3 mesi consecutivi; per le altre specie da latte non è ancora previsto a livello comunitario come requisito di sicurezza alimentare ma, spesso, è utilizzato come parametro per il pagamento differenziato del latte sulla base della qualità.

CCS nel latte individuale e di emi-mammella

Il CCS a livello individuale e di emi-mammella costituisce un indicatore dello stato sanitario e produttivo del singolo animale e può fornire informazioni sulla dinamica della malattia. Inoltre, la determinazione del CCS a tale livello consente di effettuare in modo mirato l'esame colturale e aumentare quindi la probabilità di ottenere risultati positivi. Il valore di CCS in una mammella ovina sana non dovrebbe essere superiore a 300.000 cellule/ml.; Rosati (2005) riporta un valore di 265.000 cellule/ml quale valore discriminante fra campioni di latte positivi e campioni negativi all'esame colturale.

CCS e isolamento dal latte di microrganismi responsabili di mastiti

La presenza nel latte di microrganismi responsabili di mastiti si accompagna generalmente ad un incremento del CCS per cui, nelle emi-mammelle infette, il CCS risulta più elevato che in quelle sane. Diversi autori hanno studiato l'esistenza di una correlazione fra CCS e patogenicità dell'agente coinvolto, alcuni evidenziando un valore maggiore di CCS in presenza di "patogeni maggiori" come *Staphylococcus aureus* (Leitner, 2011). (Tabella n. 1)

In presenza di mastiti da SCN negli ovini e nei caprini si osserva un maggior incremento di CCS rispetto a quanto riscontrato nel bovino, probabilmente a causa di una minor resistenza e/o una migliore risposta immunitaria nei confronti di questi gruppi di batteri (Cuccuru, 2008). Anche il perdurare di valori elevati di CCS nel latte può variare in rapporto alla specie batterica coinvolta e alle sue caratteristiche di virulenza (presenza o meno di fattori di patogenicità): batteri responsabili di forme acute provocano notevoli rialzi cellulari ma di durata più breve, mentre altre specie responsabili di forme croniche provocano incrementi di CCS più moderati ma che possono protrarsi più a lungo nel tempo.

Table 1. Somatic cell counts ($\times 10^3$ cells mL^{-1}) in uninfected ewe udder halves and those infected with different pathogens. (Souza et al. 2012)

References	Pathogens			
	Uninfected	Coagulase-negative staphylococci	Minor pathogens	Major pathogens
González-Rodríguez et al. (1995)	130	1.200	450–490	4.000–4.800
Leitner et al. (2001)	388	1.371–2.129	–	–
Ariznabarreta et al. (2002)	70	–	72–160 ^a	850–19.000 ^b
Gonzalo et al. (2002) ^e	77	1.005 ^c	131 ^a	1.841
Suarez et al. (2002) ^e	244,5	–	1.044 ^d	2.046

^a Including novobiocin-resistant coagulase-negative staphylococci.

^b Including novobiocin-sensitive coagulase-negative staphylococci.

^c Only novobiocin-sensitive coagulase-negative staphylococci.

^d Including coagulase-negative staphylococci.

^e Geometric means of the somatic cell counts are shown.

Su 6.807 campioni di latte di emi-mammella pervenuti ed analizzati per diagnosi di mastite presso i laboratori dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna, la frequenza di isolamento di microrganismi responsabili di mastite oscilla tra 20% per la classe di cellule <300.000 cellule/ml e 50% per i campioni con CCS $>1.000.000$ cellule/ml. Questo risultato indica che la *performance* diagnostica dell'esame colturale nella diagnosi di infezione mammaria è bassa a causa del rischio di risultati falsi positivi, soprattutto nel caso di microrganismi ambientali e opportunisti, e falsi negativi a causa di discontinuità nell'eliminazione del batterio con il latte, insufficiente sensibilità del metodo utilizzato oppure per la scarsa concentrazione dei microrganismi nel latte (effetto diluizione).

Figura 2. Relazione tra positività all'esame colturale e classi di CCS calcolato su 6807 campioni di latte di emi-mammella.

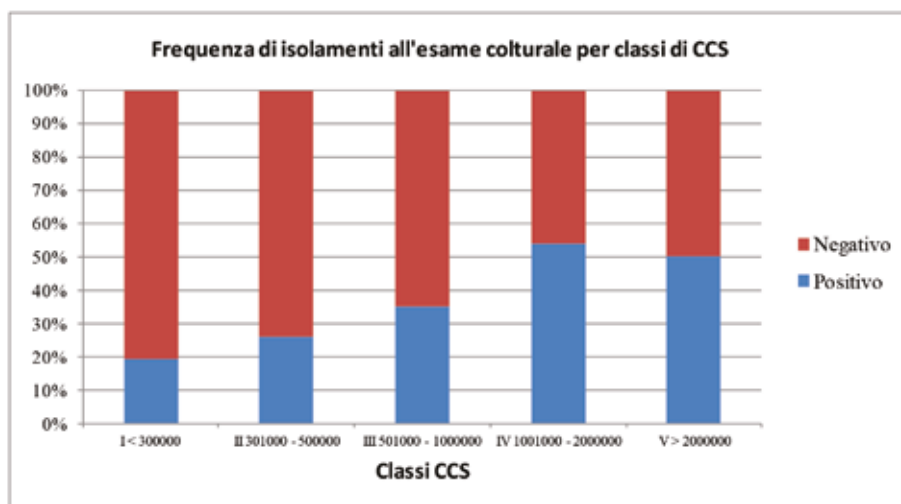
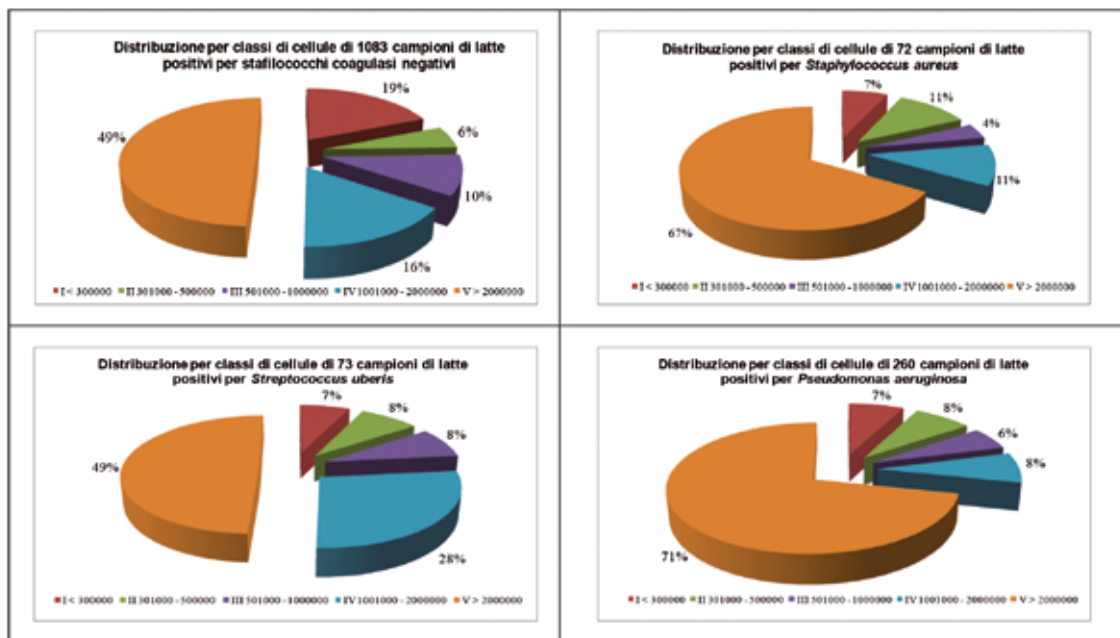


Figura 3. Distribuzione per classi di CCS dei campioni di latte risultati positivi all'esame colturale per i principali microrganismi responsabili di mastite: a) stafilococchi coagulasi negativi, b) *Staphylococcus aureus*, c) *Streptococcus uberis*, d) *Pseudomonas aeruginosa*.



Di 1.083 campioni di latte positivi all'esame colturale per SCN circa 80% hanno evidenziato un valore di CCS >300.000 cellule/ml mentre il 19% presentava un valore di CCS considerato fisiologico per un animale non affetto da mastite; questo fenomeno in parte può essere dovuto alla origine extra-mammaria dei microrganismi e in parte alla presenza di forme croniche di mastiti.

Per quanto riguarda i campioni positivi per *Staphylococcus aureus*, solo il 7% dei campioni riportava un CCS <300.000 cellule/ml e il 67% CCS >2.000.000 cellule/ml. Analogamente a *Staphylococcus aureus*, sia *Streptococcus uberis* che *Pseudomonas aeruginosa* presentavano un CCS <300.000 cellule/ml nel 7% dei campioni di latte.

Da sottolineare il numero dei campioni positivi per *Pseudomonas aeruginosa* con valori di CCS >2.000.000 cellule/ml (71%), simili a quelli riscontrati per *Staphylococcus aureus*, a dimostrazione che tali microrganismi scatenano una risposta infiammatoria imponente dando luogo a forme acute, talvolta con risentimento sistemico ed esito letale.

Conclusioni

Dai risultati ottenuti si evidenzia la presenza di una relazione fra risultato dell'esame colturale e CCS come conseguenza del processo infiammatorio scatenato dai microrganismi che si localizzano nella mammella. Tuttavia, non sempre la reazione infiam-

matoria, e quindi la risposta cellulare, è associata all'isolamento del batterio responsabile; ciò è maggiormente evidente per SCN, responsabili di mastiti subcliniche, che rappresentano le forme più frequenti negli allevamenti da latte.

Inoltre, la positività microbiologica rilevata in campioni di latte con CCS fisiologico (<300.000 cellule/ml) potrebbe essere attribuito a microrganismi di provenienza extra-mammaria come i batteri opportunisti presenti sulla cute della mammella e i germi contaminanti di provenienza ambientale.

Valori elevati di CCS in presenza di negatività microbiologica potrebbero essere dovuti al perdurare dello stato infiammatorio in assenza di infezione, all'eliminazione discontinua di microrganismi con il latte o all'insufficiente concentrazione dei microrganismi nel campione prelevato non rilevabili dai metodi di isolamento applicati. In seguito alle considerazioni summenzionate, la valutazione dei risultati di laboratorio risulta essere complessa, in particolare in caso di isolamento di germi ambientali e opportunisti in assenza di sintomatologia clinica, poiché non si hanno certezze della provenienza mammaria. Per tale motivo è indubbio che la prova colturale da sola non sempre è sufficiente a stabilire diagnosi di mastite e che il corretto campionamento, insieme alla determinazione del CCS, può dare un importante contributo in tal senso. Pertanto, la determinazione del CCS sul latte o la sua valutazione indiretta attraverso il CMT può essere considerato a tutti gli effetti un valido supporto diagnostico all'esame colturale.

Per la diagnosi di mastite risulta fondamentale l'integrazione fra l'attività del veterinario aziendale e il laboratorio al fine di poter formulare diagnosi maggiormente accurate ed attendibili quale strumento indispensabile per definire e verificare le strategie di controllo da applicare, monitorare lo stato sanitario dell'allevamento, valutare la sensibilità agli antibiotici, verificare l'efficacia della terapia e disporre di ceppi batterici per l'allestimento di vaccini stabulogeni.

Bibliografia

1. Bergonier D., de Crémoux R., Rupp R., Lagriffoul G. and Berthelot X. (2003) Mastitis of dairy small ruminants. *Vet. Res.* 34, 689-716
2. Cuccuru C., Meloni M., Bronzo V., Moroni P. (2008) Correlazione tra infezioni mammarie da stafilococchi coagulasi negativi, contenuto in cellule somatiche e produzione di latte in pecore di razza sarda. *Supplemento Large Animal Review*; 14
3. Cuccuru C., Moroni P., Zecconi A., Casu S., Caria A., Contini A.. (1997) Milk differential cell counts in relation to total counts in Sardiniana ewes. *Small Ruminant Research* 25: 169-173.
4. Dore S., Tola S., Bandino E., Cabras P., Carboni G. A., D'Ascenzo V., Liciardi M., Lollai S., Longheu C., Vidili A. and Cannas E. A.. Identification and prevalence of coagulase-negative Staphylococcus species in Sardinian dairy sheep herds. National Mastitis Council Regional Meeting, Ghent, Belgium 4-6 Agosto 2014: pag. 133
5. Dore S., Bonelli P., Nicolussi P., Re R., Cannas E. A., (2011) Variation in cell population and lymphocyte subpopulation in milk from sarda dairy sheep in relation to total somatic cell content. Special Issue of the International Dairy Federation 1201, IDF International Symposium on Sheep, Goat and other non Cow Milk

6. International Dairy Federation (2003) Ruminant mammary gland immunity. Ref. S.I. 0302, ISBN 92 9098 037-0
7. Lagriffoul G, Barillet F, Bergonier D, Berthelot X, Jacquin M. (1999) Relation entre les comptages de cellules somatiques du lait de troupeau et la prévalence des mammites subcliniques des brebis estimée avec les comptages de cellules somatiques individuels. In: Barillet F, Zervas NP editor. Proceedings of the Sixth International Symposium on the Milking of Small Ruminants. Milking and Milk Production of Dairy Sheep and Goats, Athens, Greece. Netherlands: Wageningen Pers;;p. 151–156
8. Las Heras A, Vela AI, Fernández E, Legaz E, Domínguez L, Fernández-Garayzábal JF. (2002) Unusual outbreak of clinical mastitis in dairy sheep caused by *Streptococcus equi* subsp. zooepidemicus. *J Clin Microbiol.* 40(3):1106-8.
9. Leitner G. , Sapiero S., Krifucks O., Weisblit I., Lavi Y., Heller E.D., (2011). Systemic and local mammary gland immunity to udder infection in goats by various *Staphylococcus* species, *Small Ruminant Res.*, 95, 160-167.
10. Leitner G., Chaffer M., Caraso Y., Ezra E., Kababea D., Winkler M., Glickman A., Saran A.. (2003) Udder infection and milk composition-fat, protein and lactose- in Israeli-Assaf and Awassi sheep. *Small Ruminant Research* 49, 157-164
11. Maldonado LA, Hamid ME, Gamal El Din OA, Goodfellow M (2004) *Nocardia farcinica*--a significant cause of mastitis in goats in Sudan. *J S Afr Vet Assoc.*; 75(3):147-9.
12. Rosati R, Militello G, Boselli C, Giangolini G, Amatiste S, Brajon G, Gazzoni S, Casini M, Scatassa M, Bono P, Cannas A, Mugoni G, Simula M, Denti G, Gradassi S, Fagiolo A (2005). Cellule somatiche nel latte ovino e caprino: definizione del valore medio nazionale e del valore fisiologico. *Scienza e Tecnica Lattiero-Casearia*, 56 (3);
13. Simojoki H, Hyvönen P, Plumed Ferrer C, Taponen S, Pyörälä S. (2012) Is the biofilm formation and slime producing ability of coagulase-negative staphylococci associated with the persistence and severity of intramammary infection? *Vet Microbiol.* 158(3-4):344-52
14. Souza F.N., Blagitz M.G. , Penna C.F.A.M., Della Libera A.M.M.P., Heinemann M.B., Cerqueira M.M.O.P. (2012) Somatic cell count in small ruminants: Friend or foe?. *Small Ruminant Research* 107; 65– 75
15. UNI EN ISO 13366- 2:2007 (Conta delle cellule somatiche – Parte 2: Guida sulle condizioni operative dei contatori fluoro-opto-elettronici)

Relazione tra la morfologia dell'apparato mammario e le infezioni mastitiche

Casu Sara

Settore Genetica e Biotecnologie, Dipartimento per la Ricerca sulle produzioni Animali, AGRIS-Sardegna, S.S. Sassari-Fertilia Km 18.6 -07100 Sassari

Introduzione

La sanità dell'apparato mammario è un aspetto importante dell'allevamento ovino perché può condizionare i livelli produttivi degli animali e influenzarne la durata della carriera produttiva. Nonostante le mastiti cliniche abbiano una bassa incidenza nelle pecore (inferiore al 5%), esse rappresentano insieme a quelle croniche, la principale causa di riforma volontaria in questa specie dopo il basso livello produttivo (Barillet et al., 2001; Bergonier et al., 2003). Diversi studi hanno indicato che le mastiti subcliniche possono provocare diminuzioni nella produzione di latte e, alterando la composizione del latte, riduzioni della consistenza della cagliata (Gonzalo et al., 2002; Leitner et al., 2004, 2008). Poiché i leucociti che originano dal sangue per chemiotattismo e diapedesi in risposta a aggressioni locali si traducono in un incremento delle cellule somatiche nel latte il valore di CCS (Conta Cellule somatiche) del latte è stato proposto anche negli ovini come indicatore della stato sanitario della mammella (Fthenakis, 1996; Berthelot et al., 2006; Lafi, 2006) e come indice della qualità del latte (Pirisi et al., 2000; Raynal-Ljutovac et al., 2007). Ancora controversa risulta tuttavia la definizione di valori soglia (puntuali o dinamici) per l'identificazione degli animali infetti sulla base del valore di CCS del latte, trovandosi in bibliografia soglie variabili tra le 200 000 e 1 500 000 cells/ml (Mavrogenis et al., 1995; Fthenakis, 1996; Berthelot et al., 2006).

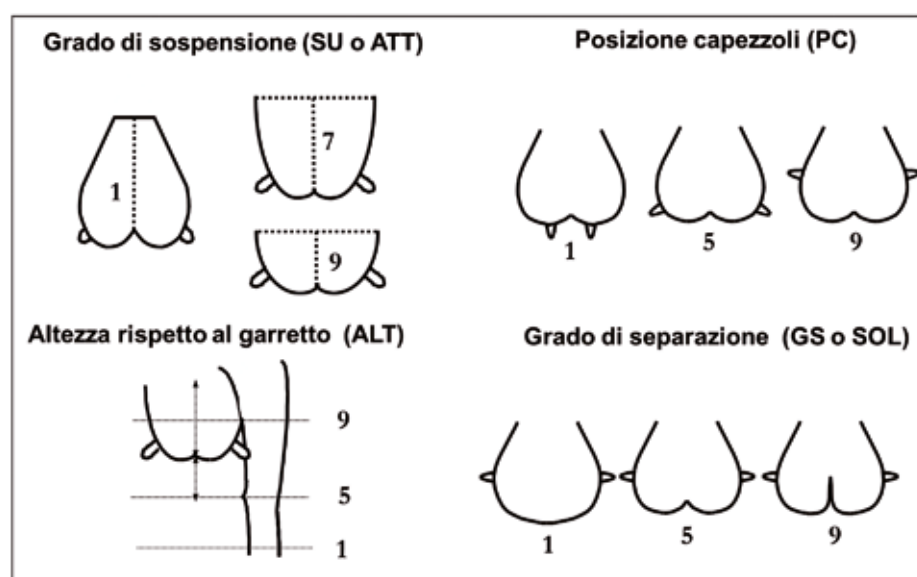
Studi condotti nel decennio passato hanno dimostrato anche negli ovini l'esistenza di una variabilità genetica di CCS, con stime di ereditabilità di diverse misure di CCS (media per lattazione, trasformazione logaritmica, etc) che variano tra 0.11 e 0.18 (Baro et al. 1994; El Saied et al. 1999; Barillet et al., 2001; Rupp et al., 2003). Pertanto, così come nelle vacche da latte, il CCS è stato proposto come criterio di selezione per il miglioramento genetico della sanità della mammelle anche negli ovini (Barillet et al., 2001). Ad oggi tuttavia, benché le cellule somatiche siano misurate in routine in diverse razze ovine in Francia, Italia e Spagna (Astruc et al., 2012), la riduzione del loro contenuto nel latte è un obiettivo di selezione solo per la razza Lacaune (Barillet et al., 2007). In questa specie inoltre, sia a causa della mancata registrazione che della

scarsa frequenza dei casi clinici, non sono disponibili stime di correlazioni genetiche tra mastiti (cliniche o subcliniche) e contenuto in cellule somatiche del latte e la conoscenza delle relazioni genetiche tra CCS e mastiti cliniche rimane scarsa. Risultati preliminari di un esperimento basato su due linee di pecore Lacaune selezionate in maniera divergente per lo SCS (Score di Cellule Somatiche ottenuto dalla trasformazione logaritmica delle CCS) suggeriscono che la selezione per un ridotto contenuto in cellule somatiche nel latte può migliorare la resistenza alle mastiti sia cliniche che subcliniche anche in questa specie (Rupp et al., 2009).

Nei bovini da latte è stata da tempo dimostrata una relazione sia tra lo morfologia dell'apparato mammario e il valore di CCS che tra la morfologia mammaria e incidenza di mastiti cliniche Seykora and Mc-Daniel, 1986; Rogers et al., 1991; Rupp and Boichard, 1999. Young et al. (1960) furono i primi ad indicare correlazioni genetiche favorevoli (comprese tra -0.48 a -0.28) tra altezza della mammella e score per mastiti cliniche, infezioni batteriche e conta leucocitaria. Seykora e McDaniel (1985; 1986) trovarono una correlazione genetica negativa tra altezza della mammella e CCS. Rogers et al. (1991) suggerirono che la selezione per mammelle meglio sostenute e con capezzoli più vicini e più corti avrebbe ridotto o rallentato l'aumento di cellule somatiche prodotto dal progresso genetico sul latte. Infine Boettcher et al. (1998) e Rupp e Boichard (1999) confermarono che nella bovina mammelle profonde, con capezzoli distanti tra loro e vicini al suolo erano geneticamente predisposte a presentare valori di più elevati. Negli ovis, a partire dalla metà degli anni 90, con l'obiettivo di studiare e migliorare l'attitudine alla mungitura meccanica degli ovis, sono stati messi a punto sistemi di valutazione dei caratteri di morfologia mammaria basati su scale lineari di 9 punti. Tali sistemi di valutazione, sviluppati inizialmente in Spagna (de la Fuente et al., 1996) e successivamente in Francia e Italia, sono attualmente utilizzati per le razze Churra (Fernandez et al., 1997), Manchega (Serrano et al., 2002), Laxta (Legarra e Ugarte, 2005), Lacaune (Marie-Etancelin et al., 2005) e Sarda (Casu et al., 2006). I caratteri valutati sono quelli che maggiormente condizionano la facilità di mungitura in questa specie: altezza o profondità della mammella, altezza della cisterna o posizione dei capezzoli, forza dell'attacco ventrale, solco intramammario, dimensione del capezzolo, con alcune differenze tra i vari sistemi (Marie-Etancelin et al., 2001): il sistema francese non considera la forza dell'attacco ventrale mentre quello spagnolo non valuta la profondità del solco e considera la dimensione del capezzolo, attualmente in fase di introduzione anche per la razza Sarda. Tutti i sistemi considerano l'altezza della mammella e la posizione dei capezzoli, carattere, quest'ultimo dal quale dipende il numero di interventi manuali da parte dell'operatore per ottenere il completo svuotamento della mammella durante la mungitura meccanica. Oltre alla pertinenza dei caratteri indicati per valutare l'attitudine alla mungitura meccanica delle pecore (Casu et al., 2000), gli studi realizzati nel decennio scorso hanno dimostrato: l'obiettività del metodo di valutazione che, per quanto soggettivo, permette elevate correlazioni tra valutatori esperti (Marie-Etancelin et al., 2001; Casu et al.; 2000);

l'elevata o media ripetibilità dei caratteri rispettivamente entro e tra lattazioni (Marie et al., 1999; Casu et al., 2000; Casu e Carta, 2002); la possibilità di procedere al miglioramento genetico della mammella attraverso la selezione per questi criteri o anche solo per uno di essi considerati i valori di ereditabilità variabili, a seconda del carattere e della razza, tra 0.19 e 0.42 (Legarra et Ugarte 2005; Marie-Etancelin et al., 2005; Casu et al., 2006a) e le correlazioni genetiche moderate ma favorevoli tra questi; e, infine, la possibilità di valutare correttamente gli animali con una singola punteggiatura effettuata precocemente nella carriera produttiva, viste che le forti correlazioni genetiche tra caratteri misurati in lattazioni successive (Legarra e Ugarte, 2005)

Figura 1. Scale di valutazione lineare (9 punti) utilizzate per la valutazione della morfologia mammaria nella razza Sarda. SU: grado di sospensione; PC: posizione dei capezzoli; ALT: altezza della mammella; GS: grado di separazione delle due emi-mammelle (Casu et al., 2006)



In questo lavoro saranno presentati i risultati disponibili in letteratura e le evidenze delle sperimentazioni realizzate negli allevamenti di Agris Sardegna e degli studi condotti sugli ovini di razza Sarda sulle relazioni tra la morfologia e la sanità della mammella. In particolare saranno presentate le relazioni fenotipiche tra caratteri di morfologia mammaria, e la valutazione del rischio di incorrere in infiammazioni mammarie o presentare un elevato valore di CCS nel corso della carriera produttiva degli ovini. Infine saranno presentate le stime delle correlazioni genetiche tra caratteri di morfologia mammaria e contenuto in cellule somatiche del latte ovino.

RELAZIONI FENOTIPICHE TRA MORFOLOGIA E SANITÀ DELLA MAMMELLA

Recenti lavori realizzati nei greggi sperimentali di AGRIS hanno permesso di studiare le relazioni tra la morfologia mammaria e la sanità della mammella negli ovini da latte. In particolare gli studi hanno valutato il rischio di manifestare uno stato infiammatorio durante tutta la carriera produttiva delle pecore in funzione della morfologia mammaria valutata in prima lattazione (Casu et al., 2006b; Sechi et al., 2007; Casu et al., 2010). Inizialmente sono stati analizzati dati raccolti tra il 2000 e il 2005 in due greggi sperimentali caratterizzati da differenti sistemi di conduzione. Il primo (BC) era costituito da 894 pecore tutte nate nel 1999 da un incrocio di ritorno SardaxLacaune. In questo gregge non si effettuava alcuna riforma volontaria degli animali fino al termine della quarta lattazione, quando gli animali venivano abbattuti. Il secondo gregge (SA), costituito da pecore sarde di diverse classi di età, era invece sottoposto ogni anno ad un'importante riforma volontaria sulla base, tra l'altro, delle caratteristiche morfologiche e sanitarie della mammella. La morfologia mammaria veniva valutata, con le scale lineari di 9 punti in uso per la razza Sarda (figura 1, Casu et al., 2006), per i 4 caratteri: posizione dei capezzoli (PC), altezza rispetto al garretto (ALT), grado di separazione delle 2 emimammelle (GS), grado di sospensione (SU). Per l'analisi sono state considerate le valutazioni morfologiche relative alla prima lattazione (n=894 e annata 2000 per BC e n=1558 e annate 2000-2004 per SA). La misura del contenuto in cellule somatiche del latte veniva realizzata mensilmente nel gregge SA e 2 volte al mese nel gregge BC. In entrambi i greggi si registravano inoltre i casi di animali che manifestavano sintomi di infiammazioni della mammella (mammella calda, alterazioni del latte) o mastiti confermate da analisi microbiologica. Lo stato sanitario della mammella era riferito all'intera carriera produttiva degli animali, la cui durata media era di 3,6 anni nel gregge BC e di 2,3 anni in quello SA. Sono stati definiti "positivi" quegli animali per i quali era stata registrata un'infiammazione mammaria almeno una volta nel corso della carriera produttiva o che avevano avuto almeno 2 controlli con $CCS > 1 \cdot 10^6$ cells/ml in una delle loro lattazioni controllate. Sulla base di questi criteri era risultato "positivo" il 43 % degli animali nel gregge SA e il 56% degli animali nel gregge BC, dei quali il 23,5 e il 24,1% rispettivamente con un'alterazione mammaria segnalata. Su entrambi i dataset è stata eseguita una regressione logistica per modellizzare la probabilità di essere "positivi" in funzione del punteggio ottenuto in prima lattazione per i caratteri di morfologia mammaria. Per entrambi i greggi il rischio di essere "positivo" risultava crescere in maniera significativa con il peggiorare dei valori di PC, SU e ALT ma indipendente da GS. Nel gregge BC la probabilità di manifestare uno stato infiammatorio nel corso della carriera produttiva aumentava del 13, 4 e 5,5% per i valori estremi osservati dei caratteri ALT, SU e PC. Nel gregge SA tali differenze erano simili per SU e PC (4 e 6% rispettivamente) ma inferiori per ALT (3%),

probabilmente perché in questo gregge animali con mammelle lunghe in prima lattazione avevano una maggior probabilità di essere riformati (Sechi et al., 2007).

Nel follow-up dello studio eseguito includendo nell'analisi anche i dati raccolti fino al 2008 sulla progenie delle pecore BC ottenuta dall'accoppiamento di queste con arieti di razza Sarda (Casu et al., 2010) è stato invece valutato separatamente il rischio di una pecora di manifestare una mastite clinica da quello di produrre latte con un elevato contenuto di cellule somatiche.

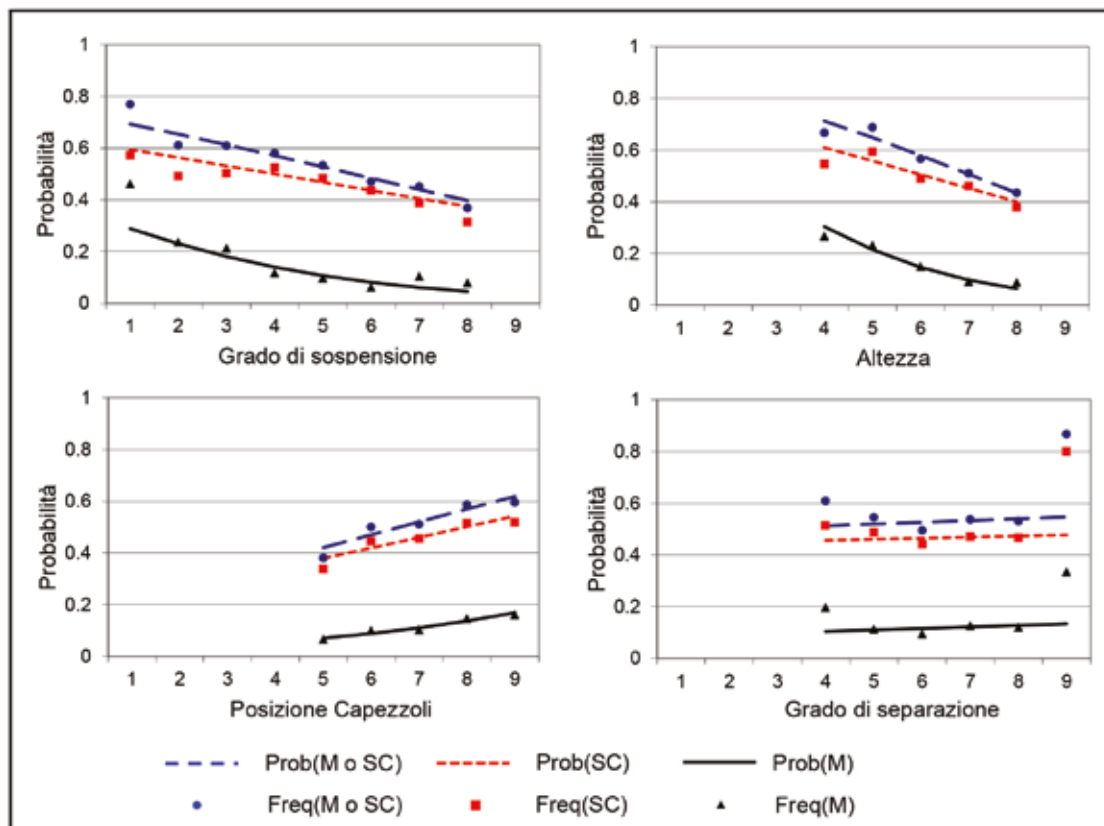
Nell'analisi sono state incluse le valutazioni di morfologia mammaria di prima lattazione di 1,587 pecore e 39,950 loro misure giornaliere di CCS. Come nel caso precedente inoltre, venivano registrate tutti i casi di mastite clinica. In questa analisi, lo stato sanitario di ogni animale nel corso della carriera produttiva è stato definito secondo 3 classi: M) che includeva animali che avessero manifestato almeno una volta sintomi di mastite clinica (mammella calda, latte con grumi, etc), SC) che includeva animali che avevano avuto almeno 2 controlli con $CCS > 1 \times 10^6$ cells/ml in una delle loro lattazioni controllate; H): con animali che non avessero mai manifestato segni di infezioni o infiammazioni mammarie nel corso della loro carriera. In questo studio sono state eseguite 3 diverse regressioni logistiche per ogni carattere di morfologia mammaria, raggruppando la variabile dipendente analizzata in due livelli "M" versus "SC or H", "SC" versus "H" e infine "M o SC" versus "H".

L'analisi logistica di "M" versus "SC or H", in funzione dello score dei caratteri di morfologia mammaria ottenuto in prima lattazione ha mostrato un effetto significativo di PC, SU e ALT sul rischio di una pecora di manifestare una mastite clinica nel corso della carriera produttiva. La probabilità di manifestare sintomi di mastite clinica passava infatti dal 0.28 al 0.034, dal 0.64 al 0.041 e da 0.168 a 0.03 negli estremi teorici della scala di valutazione di SU, ALT e PC rispettivamente.

Il manifestarsi dei sintomi di una mastite clinica risultava pertanto più probabile in animali che presentavano mammelle debolmente attaccate alle parete addominale, vicine al suolo e con capezzoli impiantati in alto. L'effetto del grado di separazione delle due emi-mammelle non risultava significativo, anche se la frequenza degli animali che avevano mostrato segni di mastite clinica era più alta tra gli animali che mostravano elevati valori di GS. Ciò sarebbe in accordo con le osservazioni empiriche degli allevatori non gradiscono le mammelle con solco mediano troppo marcato adducendo il fatto che questo possa provocare un irritante sfregamento tra le due le emi-mammelle.

Non considerando gli animali con mastiti cliniche segnalate, l'analisi logistica di "SC" versus "H" ha mostrato un effetto significativo di ALT, SU e PC anche sul rischio che una pecora producesse latte con elevati valori di CCS in una delle lattazioni controllate. La probabilità di manifestare uno stato infiammatorio della mammella nel corso della carriera produttiva passava da 0.64 a 0.42, da 0.75 a 0.43 e da 0.61 a 0.25 per gli estremi teorici delle scale di valutazione di SU, ALT, e PC rispettivamente.

Figura 2. Risultati dell'analisi logistica (elaborato da Casu et al., 2010). Probabilità vera (Freq) e stimata (Prob) che una pecora manifesti sintomi di mastite (M) o almeno 2 controlli con CCS >1x10⁶ cellule/ml (SC1) o entrambi gli eventi (M or SC) in una delle sue lattazioni controllate, in funzione della valutazione dei caratteri di morfologia mammaria ottenuta in prima lattazione



1 Gli animali con segni clinici di mastite non erano inclusi nell'analisi "SC" vs "H"

Infine, l'analisi congiunta di "M o SC" vs "H" ha confermato l'effetto significativo dei valori di ALT, SU e PC sul rischio di una pecora di avere un'infezione della mammella (sia una mastite clinica che un elevato contenuto in cellule somatiche del latte) nel corso della carriera produttiva (Figura 2).

L'insieme di questi risultati dimostra che la morfologia mammaria è un fattore determinante la sanità della mammella. In effetti mammelle profonde sono più soggette a traumi e alla contaminazione da parte di microrganismi esterni a causa della maggior vicinanza al suolo. Inoltre le caratteristiche che influenzano la facilità di mungitura possono anche influenzare la sanità della mammella. Infatti, la ritenzione del latte nelle mammelle difficili da mungere a macchina - profonde, poco sostenute e con capezzoli impiantati in alto, riducono l'eliminazione meccanica dei batteri e l'attivi-

tà dei polimorfonucleati neutrofilo, facilitando lo sviluppo di infezione preesistenti. Inoltre capezzoli orizzontali e posizionati in alto sono più suscettibili alla caduta dei gruppi prendi capezzoli durante la mungitura meccanica e implicano la necessità di un ripasso manuale per il completo svuotamento della cisterna. Sia le oscillazioni di vuoto causate dalla caduta dei gruppi, responsabile del fenomeno dell'impatto, che il ripasso rendono più facile l'ingresso dei patogeni attraverso lo sfintere del capezzolo aperto e quindi la colonizzazione della cisterna da parte dei patogeni (Bergonier et al., 2003).

Considerata la ripetibilità dei caratteri di morfologia mammaria tra lattazioni, la loro valutazione secondo criteri usati per giudicare l'attitudine alla mungitura meccanica, è quindi un utile strumento per la scelta di giovani pecore che avranno un minore rischio di incorrere in problemi di salute della mammella nel corso della loro carriera. Anche un'accurata ispezione obiettiva della ghiandola mammaria alla fine di ogni lattazione finalizzata all'identificazione di lesioni o anomalie, indici di infezioni in atto o pregresse, può fornire validi criteri di riforma per migliorare lo stato sanitario del gregge (Romeo et al., 1998; Saratsis et al., 1998, Marogna et al., 2010).

In particolare Romeo et al. (1998) suggeriscono di prestare attenzione alle seguenti anomalie:

- mammelle asimmetriche, che gli autori definiscono atrofiche;
- noduli, strutture dure poste all'interno del parenchima ghiandolare e ben delimitate dal resto del tessuto normale;
- indurazioni, definite come regioni del tessuto mammario che alla pressione manuale mostrano una più o meno marcata perdita di elasticità.

Infatti, questi autori in un'indagine realizzata nella razza Laxta su 6,875 palpazioni accompagnate dalle analisi dei campioni di latte corrispondente, trovarono valori di CCS significativamente più elevati in latte di mammelle con indurazioni, noduli, disequilibri o lesioni miste che in quello di mammelle prive di tali anomalie. Al contrario la presenza di formazioni centrali ingrossate nel fondo della mammella (mastopatie fibrocistica di eziologia non nota comunemente definite "lubie" tra tecnici e allevatori di pecore di razza Sarda) non portava a valori di CCS significativamente diversi da quelli riscontrati in campioni provenienti da mammelle normali. Anche Marogna et al. (2010) hanno recentemente condotto uno studio su 15 allevamenti di razza Sarda con ricorrenti epidemie di mastite volto a studiare le relazioni tra segni clinici e presenza di patogeni nel latte. La registrazione dei segni rilevati all'esame ispettivo della mammella, differenziati per emimammella, comprendeva l'eventuale presenza di pustole, croste, escrescenze cornee, ulcere, noduli, ascessi, rubor, calor e dolor (questi ultimi rispettivamente valutati al termotatto e alla palpazione). L'esame della consistenza mammaria alla palpazione si differenziava in normale, edematosa, sclerotica e atrofica. La valutazione dell'aspetto macroscopico del latte veniva differenziato in secreto assente, aspetto normale, sieroso, emorragico, con pus, con frustoli. Venivano inoltre valutate la dimensione dei linfonodi sopramammari e l'eventuale presenza di "lubie" o "lupie". La presenza di tali segni clinici è stata messa in relazione con l'analisi batteriologica del latte e con

la presenza o meno in esso di diversi patogeni mastidogeni. Almeno un segno clinico di mastite è stato rilevato sul 75 % di capi studiati (2.198). L'esame batteriologico dei campioni di latte prelevati ha prodotto 1093 risultati positivi (49,7%). Tra le specie batteriche identificate, tre rappresentavano il 55,3% di tutti gli isolati: *Streptococcus uberis* (25,6% di positivi e il 12,7% del totale), *Staphylococcus epidermidis* (16,2% di positivi e l'8% del totale), e *Staphylococcus aureus* (13,5% di positivi e il 6,7% del totale). In generale l'analisi logistica ha mostrato un significativo effetto della presenza di linfonodi sopramammari reattivi, ascessi visibili all'esame ispettivo, frustoli nel secreto o dell'aspetto sieroso del latte sulla probabilità di avere un esame colturale positivo. Tali segni clinici sono risultati inoltre significativamente associati con la presenza di *Streptococcus uberis*, mentre la probabilità di isolare lo *Staphylococcus epidermidis* è risultata significativamente associata a segni di pustole e ulcere. Per quanto concerne lo *Staphylococcus aureus* tra tutti i segni clinici rilevati, gli unici che hanno mostrato un effetto significativo sono stati quelli tipici delle mastiti croniche: noduli, ascessi, sclerosi e atrofia. Come nell'indagine spagnola, la presenza di cisti latte, riscontrata in 11 allevamenti su 15 con percentuale di capi affetti del 2,1 %, non ha mostrato una associazione significativa con la presenza di germi dal latte. Gli autori concludono che un attento esame ispettivo della mammella, più agevole nei piccoli ruminanti che nei bovini, fornisce un metodo rapido, sicuro ed economico per la valutazione dello stato sanitario della mammella, specie in alcuni momenti della lattazione, quali quello di allattamento e l'inizio e la fine della lattazione, quando test diagnostici come il CCS o il CMT (California Mastitis Test) non danno risultati affidabili (Marogna et al., 2010).

Anche nel gregge sperimentale BC precedentemente descritto, che dal 2003 comprende animali di diverse classi di età con una quota di rimonta annuale del 30%, venivano periodicamente eseguite delle palpazioni mammarie e registrati i noduli, gli ingrossamenti centrali e i disequilibri della mammella (tabella 1). Negli animali in lattazione, le palpazioni venivano realizzate prima della mungitura, poiché è stato osservato che gli ingrossamenti centrali sono più difficili da individuare nelle mammelle vuote.

Tabella 1. Frequenza per classe di età delle anomalie mammarie osservate in 1734 pecore incrociate SardoxLacaune che hanno svolto le loro lattazioni tra il 2000 e il 2007.

età	n. oss.	lubie	disequilibrio1				noduli
			1	2	3	4	
1	1621	258	168	147	61	10	11
2	1621	402	230	196	78	34	128
3	1490	295	217	192	111	26	136
4	1117	154	142	115	80	14	43
tot	5849	1109	757	650	330	84	318

leggero (1), medio (2), forte (3), molto forte (4)

In questo gregge la relazione tra il contenuto in cellule somatiche del latte e la presenza di anomalie mammarie è stata studiata con un modello lineare avente come variabile dipendente la media aritmetica per lattazione di CCS (LCCS) o di SCS (LSCS) e come fattori fissi l'anno di lattazione, l'età degli animali, la presenza di anomalie ("lubie", noduli e disequilibri considerati in tre analisi indipendenti) e l'interazione tra questo fattore e l'età (Casu et al., 2008). L'analisi di varianza ha mostrato un effetto altamente significativo dei disequilibri e dei noduli sulla media aritmetica per lattazione sia di CCS che di SCS. Al contrario, nessun effetto della presenza di ingrossamenti mammari centrali è stato individuato sulle due variabili, in accordo con le osservazioni degli altri autori (Romeo et al., 1998; Marogna et. 2010)

CORRELAZIONI GENETICHE TRA MORFOLOGIA MAMMARIA E CONTENUTO IN CELLULE SOMATICHE DEL LATTE

In assenza di una registrazione sistematica delle mastiti negli ovini le relazioni tra la sanità della mammella e la sua morfologia in questa specie sono state essenzialmente studiate attraverso la stima delle correlazioni genetiche tra caratteri morfologici, rilevati con le scale lineari precedentemente descritte, e il valore di CCS (o SCS), misurato nell'ambito dei routinari controlli funzionali.

I valori della correlazione genetica (o correlazione tra EBV) stimati in diverse razze ovine sono riassunti in tabella 2 nella quale, per facilità di comprensione, il segno è stato uniformato nel caso di uso di scale di valutazione differenti. In tutte le razze ovine studiate, le correlazioni genetiche sono risultate favorevoli, anche se di diversa entità. Esse sono particolarmente elevate per la razza Sarda e nel gregge sperimentale di AGRIS, probabilmente perché stimate su pecore in prima lattazione, allevate in un unico gregge e valutate da pochi punteggiatori esperti (Sechi et al., 2007; Casu et al., 2010).

Le mammelle con capezzoli impiantati in alto e poco sostenute (solco mediano poco marcato, attacco debole e prossime al suolo) sono quelle geneticamente più predisposte a produrre un più elevato livello di cellule somatiche nel latte.

Correlazioni genetiche significative tra altezza della mammella e contenuto in cellule somatiche del latte sono state stimate, oltre che negli ovini, anche nei bovini (Boetcher 1998; Rupp e Biochard, 1999) e nei caprini (Rupp et al., 2011). Moderate e favorevoli, con l'eccezione della razza Laxta, sono risultate anche le correlazioni genetiche tra contenuto in cellule somatiche del latte e posizione dei capezzoli. Il confronto con le correlazioni genetiche stimate tra posizioni dei capezzoli e SCS nelle vacche da latte è arduo, in quanto questo carattere di morfologia è valutato diversamente nelle due specie. Tuttavia alcuni studi (Seykora and McDaniel, 1986; Rogers et al. 1991; Rupp and Boichard, 1999) hanno trovato che capezzoli più vicini, e quindi più bassi, nelle vacche sono geneticamente associati con livelli inferiori di SCS.

Tabella 2. Correlazioni genetiche tra caratteri di morfologia mammaria e contenuto in cellule somatiche del latte stimate in tre razze ovine.

Carattere	Laxta¹	Lacaune²	Lacaune³	Sarda⁴	Mon⁵
Lunghezza capezzolo	0.29				
Posizione capezzoli	-0.01	0.10	0.12	0.45	0.39
Altezza mammella	-0.10	-0.21	-0.32	-0.64	-0.50
Grado di sospensione		-	-	-0.66	-0.42
Perimetro dell'attacco	-0.27				
Grado di separazione		-0.21	-0.31	-0.15	0.05

1:Legarra e Ugarte 2005; 2: Marie-Etancelin et al., 2005; 3: Barillet et al., 2006;
4: Sechi et al., 2007 ;5 Casu et al., 2010

Questi risultati indicano che il miglioramento genetico della morfologia mammaria oltre a migliorare l'attitudine alla mungitura meccanica negli ovini è atteso avere un effetto positivo sulla sanità della mammella. La selezione dovrebbe focalizzarsi sulla posizione dei capezzoli, l'altezza della mammella o il grado di sospensione della mammella che, presentano la maggior relazione sia con l'attitudine alla mungitura meccanica che con il contenuto in CCS nel latte. La posizione dei capezzoli può essere direttamente migliorata, in quanto è moderatamente ereditabile, e presenta una scarsa correlazione genetica con la produzione di latte (Marie-Etancelin et al., 2005; Casu et al., 2006) mentre alla selezione per l'altezza della mammella, che presenta una elevata e sfavorevole correlazione genetica con la produzione di latte, è da preferire quella per il grado di sospensione (o attacco) valutato come nella razza Sarda come il rapporto tra il perimetro d'inserzione e la profondità della mammella. Questo carattere infatti, mostra un'ereditabilità simile a quella della profondità della mammella, un'elevata e favorevole correlazione genetica con l'altezza (0.82), correlazione genetica favorevole con il contenuto in cellule somatiche del latte e una correlazione genetica solo debolmente sfavorevole con la produzione di latte.

Conclusioni

I risultati riportati indicano che la morfologia ha un ruolo importante nel determinare la sanità della mammella. La scelta degli animali da destinare alla riproduzione o di quelli da mantenere in produzione sulla base delle caratteristiche del loro apparato mammario, rappresenta un efficace strumento per controllare il contenuto in cellule somatiche del latte, che costituisce uno dei più accreditati indicatori della sanità dell'apparato mammario. L'ispezione della mammella, con particolare attenzione alla presenza di forti disequilibri e noduli, è un altro strumento pratico ed economico per identificare gli animali che producono latte con elevato contenuto in cellule somatiche, da separare dal resto del gregge o, eventualmente, riformare. La selezione per la morfologia della mammella, concepita per migliorare l'attitudine

alla mungitura meccanica e già implementate negli schemi di selezione di alcune razze ovine da latte, costituisce un approccio valido per ridurre in maniera durevole il contenuto in cellule somatiche del latte.

Bibliografia

- J.M. Astruc, Z. Bara, F. Barillet, A. Carta, E. Gootwine, D. Kompan, F.J. Romberg, A. Tondo, E. Ugarte, 2012.** Report of the working group on milk recording of sheep. Proc. ICAR 38th Annual Meeting – Cork, Ireland, 28 May-1 June, 2012.
http://www.icar.org/Cork_2012/Presentations/Astruc%20Report%20of%20the%20WG.pdf
- Ali A. K. A., and Shook G. E., 1980.** An optimum transformation for somatic cell concentration in milk. *J. Dairy Sci.* 63, 487–490.
- Barillet F., R. Rupp, S. Mignon-Gristeau, J.M. Astruc, M. Jacquin, 2001.** Genetic analysis for mastitis resistance and milk somatic cell score in French Lacaune dairy sheep. *Genet. Sel. Evol.* 33, 397-415
- Barillet F., 2007.** Genetic improvement for dairy production in sheep and goats. *Small Rumin. Res.* (70) 60–75.
- Baro JA, Carriedo JA, San Primitivo F., 1994.** Genetic parameters of test day measures for somatic cell count, milk yield, and protein percentage of milking ewes. *J. Dairy Sci.*, 77:2658–2662
- Bergonier D., Berthelot X., 2003.** New advances in epizootiology and control of ewe mastitis. *Liv. Prod. Sc.* (79) 1–16.
- Bergonier D., de Cremoux R., Rupp R., Lagriffoul G., Berthelot X., 2003.** Mastitis of dairy small ruminants. *Vet. Res.* (34) 689–716.
- Berthelot X., G. Lagriffoul, D. Concordet, F. Barillet, D. Bergonier, 2006.** Physiological and pathological thresholds of somatic cell counts in ewe milk. *Small Ruminant Research*, 62, 27-31.
- Boettcher P. J., Dekkers J.C.M., and Kolstad B. W., 1998.** Development of an Udder Health Index for Sire Selection Based on Somatic Cell Score, Udder Conformation, and Milking Speed. *J. Dairy Sci.* (81) 1157-1168.
- Casu S., Deiana S., Tolu S., Carta A., 2000.** Valutazione lineare della morfologia mammaria in pecore di razza Sarda: relazioni con le produzioni latte. In Proc. XIV Congr. Naz. S.I.P.A.O.C., (SA), 18/21-10-2000:195-198.
- Casu S., Carta A., 2002.** Evoluzione della morfologia mammaria nel corso della carriera produttiva degli ovini da latte. In Atti XV Congr. Naz. S.I.P.A.O.C, 219
- Casu S., I. Pernazza and A. Carta, 2006a.** Feasibility of a Linear Scoring Method of Udder Morphology for the Selection Scheme of Sardinian Sheep. *J. Dairy Sci.*, 89, 2200-2209.
- Casu Sara, Sechi S., Salaris S, Carta A., 2006b.** Relazioni tra morfologia mammaria della mammella e rischio di infiammazioni mammary negli ovini da latte. In Proc XVII Nat. Congr. SIPAOC. 145
- Casu S., Sechi S., Salaris SI, Carta A., 2008.** La morfologia mammaria: un fattore condizionante la sanità della mammella negli ovini? Atti del XVIII Congresso Nazionale S.I.P.A.O.C. LAR Supplemento Al N. 4 - Agosto 2008, Anno 14, 18-21
- Casu S, Sechi S., Salaris S.L., A. Carta, 2010** Phenotypic and genetic relationships between udder morphology and udder health in dairy ewes *Small Rum Res.* 88 (2-3):77-83, ISSN 0921-4488, DOI: 10.1016/j.smallrumres.2010.12.013.
- El Saied U.M., Carriero J. A., de la Fuente L. F., San Primitivo F., 1999.** Genetic parameters of lactation cell counts and milk and protein yield in dairy ewes. *J. Dairy Sci.* (81) 2956–2961.
- de la Fuente, L. F., G. Fernández, and San Primitivo F., 1996.** A linear evaluation system for udder traits of dairy ewes. *Livest. Prod. Sci.* (45)171–178.
- Fernandez G., Baro J. A., de la Fuente L. F., San Primitivo F., 1997.** Genetic parameters for linear udder of dairy ewes. *J. Dairy Sci.* (80) 601-605.
- Fthenakis, G.C., 1996.** Use of somatic cell counts or of indirect tests in milk for the diagnosis of subcli-

nical mastitis in ewes. Somatic cells and milk of Small Ruminants. In: Proceedings of the International Symposium, vol. 77, Bella, Italy. EAAP Publication, pp. 27–29

Gonzalo C., Ariznabarreta A., Carriedo J. A., San Primitivo F., 2002. Mammary Pathogens and Their Relationship to Somatic Cell Count and Milk Yield Losses in Dairy Ewes. *J. Dairy Sci.* (85) 1460–1467

Lafi, S.Q., 2006. Use of somatic cell counts and California Mastitis Test results from udder halves milk samples to detect subclinical intramammary infection in Awassi sheep. *Small Rum. Res.* (62) 83–86.

Leitner G., Chaffer M., Shamay A., Shapiro F., Merin U., Ezra E., Saran A., Silanikove N., 2004. Changes in milk composition as affected by subclinical mastitis in sheep. *J. Dairy Sci.* (87) 46–52.

Leitner G., Silanikove N., Merin U., 2008. Estimate of milk and curd yield loss of sheep and goats with intramammary infection and its relation to somatic cell count. *Small Rum. Res.* (74) 221–225.

Legarra A. and E. Ugarte, 2005. Genetic Parameters of Udder Traits, Somatic Cell Score, and Milk Yield in Latxa Sheep. *J. Dairy Sci.*, 88, 2238-224

Marie-Etancelin C., Casu Sara, Rupp R., Carta A., Barillet F., 2001. New objectives of selection related to udder health, morphology and milkability in dairy sheep. 52nd EAAP annual meeting, 26-29, August, 2001, Budapest, Hungary. Abstract Book N° 7:272

Marie-Etancelin C., Casu S., Aurel M.R., Barillet F., Carta A., Deiana S., Jacquin M., Paillet F., Porte D., Tolu S., 2003. New tools to appraise udder morphology and milkability in dairy sheep. *Options Mediterr. (A Sem. Mediterr.)* (55) 71–80.

Marie-Etancelin C., Astruc J. M., Porte D., Larroque H., Robert-Granié C. 2005. Multiple-trait genetic parameters and genetic evaluation of udder-type traits in Lacaune dairy ewes. *Livest. Prod. Sci.* (97) 211-218.

Marogna G., Rolesu S., Lollai S., Tola S., Leori G., 2010. Clinical findings in sheep farms affected by recurrent bacterial mastitis. *Small Rumin. Res.* 88: 119–125

Pirisi A., Piredda G., Corona M., Pes M., Pintus S., Ledda A., 2000. Influence of somatic cell count on ewe's milk composition, cheese yield and cheese quality. In: Proc. 6th Great Lakes Dairy Sheep Symp., Guelph, Canada, 47–59

Raynal-Ljutovac K, Pirisi A, de Crémoux R., Gonzalo C., 2007. Somatic cells of goat and sheep milk: Analytical, sanitary, productive and technological aspects *Small Rumin Res.* (68) 126–144

Rogers, G. W., G. L. Hargrove, Lawlor T. J., and Ebersole J. L., 1991. Correlations among linear type traits and somatic cell counts. *J. Dairy Sci.* (74) 1087–1091.

Romeo M., Ziluaga I.Y, Marco J.C. 1998. Diagnóstico in situ de la infección mamaria mediante palpación, California Mastitis Test y su seguimiento mediante el recuento de células somáticas. En: Mamitis ovina y calidad de la leche I. *Ovis* n° 59: 61-77.

Rupp R. and D. Boichard, 1999. Genetic Parameters for Clinical Mastitis, Somatic Cell Score, Production, Udder Type Traits, and Milking Ease in First Lactation Holsteins. *J. Dairy Sci.*, 82, 2198-2204.

Rupp R., G. Lagriffoul, J. M. Astruc, and F. Barillet, 2003. Genetic Parameters for Milk Somatic Cell Scores and Relationships with Production Traits in French Lacaune Dairy Sheep. *J. Dairy Sci.*, 86, 1476-1481.

Rupp R., Bergonier D., Dion S., Hygonenq M. C., Aurel M.R, Robert-Granié C., and Foucras G., 2009. Response to somatic cell count-based selection for mastitis resistance in a divergent selection experiment in sheep. *J. Dairy Sci.* (92)1203–1219.

Rupp R., Clément V., Piacere A., Robert-Granié C. and Manfredi E., 2011. Genetic parameters for milk somatic cell score and relationship with production and udder type traits in dairy Alpine and Saanen primiparous goats. *J. Dairy Sci.* 94(7) 3629–3634.

Saratsis P., Leontides L., Tzora A., Alexopoulou C., Fthenakis G.C., 1998. Incidence risk and aetiology of mammary abnormalities in dry ewes in 10 flocks in Southern Greece”, *Prev. Vet. Med.* 37: 173 – 183

Sechi S., Salaris S., Carta A., Casu S., 2007. Relationships between SCC and Udder Morphology

Traits in Sardinian Sheep. In: Book of abstract 5th IDF Symposium on the Challenge to Sheep and Goats Milk

Serrano, M., Perez-Guzman M. D., Montoro V., Jurado J. J., 2002. Genetic analysis of udder traits in Manchega ewes. *Livest. Prod. Sci.* (77) 355–361.

Serrano, M., Perez-Guzman M. D., Montoro V., Jurado J. J., 2003. Genetic analysis of somatic cell count and milk traits in Manchega ewes. Mean lactation and test-day approaches. *Livest. Prod. Sci.* (84) 1-10.

Seykora A.J. and McDaniel B.T., 1985. Udder and teat morphology related to mastitis resistance: a review. *J. Dairy Sci.* 68(8):2087-2093.

Seykora A.J. and McDaniel B.T., 1986. Genetics statistics and relationships of teat and udder traits, somatic cell counts, and milk production. *J Dairy Sci* 69 (9):2395-2407

Young CW, Legates JE, Lecce JG.1960. Genetic and phenotypic relationships between clinical mastitis, laboratory criteria, and udder height. *J. Dairy Sci.* 43:54–62

Valutazione della ghiandola mammaria nella pecora

Giuseppina Giacinti

Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Regioni Lazio e Toscana
Via Appia Nuova, 1411 - Roma

Nella pecora da latte la valutazione della conformazione della mammella è principalmente orientata a definire le attitudini per la mungitura meccanica e i tratti genetici (altezza della mammella, posizione dei capezzoli e solco mediano) ai fini della selezione delle conformazioni ritenute più adatte. Tuttavia la conformazione dell'apparato mammario, oltre ad influenzare la mungitura meccanica, può condizionare la sanità della mammella, l'efficienza produttiva e la qualità igienica e tecnologica del latte.

È stato infatti osservato che alcune tipologie di mammelle sono più predisposte a mostrare durante il corso della lattazione, contenuti in cellule somatiche più elevati, e una maggiore incidenza di mastiti cliniche e subcliniche. Le cellule somatiche, sono globuli bianchi che dal sangue passano nel latte, il loro numero subisce variazioni fisiologiche nel corso della lattazione ma incrementi considerevoli si osservano in presenza di processi infettivi, generalmente causati da batteri. Le infezioni mammarie, soprattutto le forme subcliniche (non manifeste), oltre a determinare un peggioramento quali-quantitativo del latte, rappresentano la principale causa di perdita economica per l'allevatore.

A livello di allevamento, la valutazione della morfologia della mammella può essere utilizzata, direttamente dall'allevatore, per la scelta degli animali da mantenere in produzione a prescindere dalle finalità selettive, al fine di migliorare la sanità dell'allevamento, la qualità igienico sanitaria delle produzioni nonché il miglioramento dell'efficienza produttiva.

Nella pratica aziendale è consigliabile procedere ad un'accurata ispezione della ghiandola mammaria, da eseguire prima della mungitura, finalizzata all'identificazione di lesioni, anomalie, noduli e asimmetrie della mammella, che possono essere considerati come indici di infezione in atto o pregresse. Generalmente le diverse alterazioni si osservano in misura maggiore in soggetti con ordine di parto superiori al 4°, ciò dovuto, probabilmente, ad una più prolungata esposizione degli animali ai diversi fattori di rischio. In un nostro studio di campo sono state valutate le mammelle di circa 1639 pecore di razza Sarda e Comisana nella fase intermedia di lattazione, appartenenti a 5 diversi allevamenti ubicati nelle province di Roma e Viterbo. Le mammelle in base alla conformazione (figura 1) sono state classificate come simmetriche, allungate, asimmetriche (atrofiche), e verificata la presenza di alterazioni e noduli;

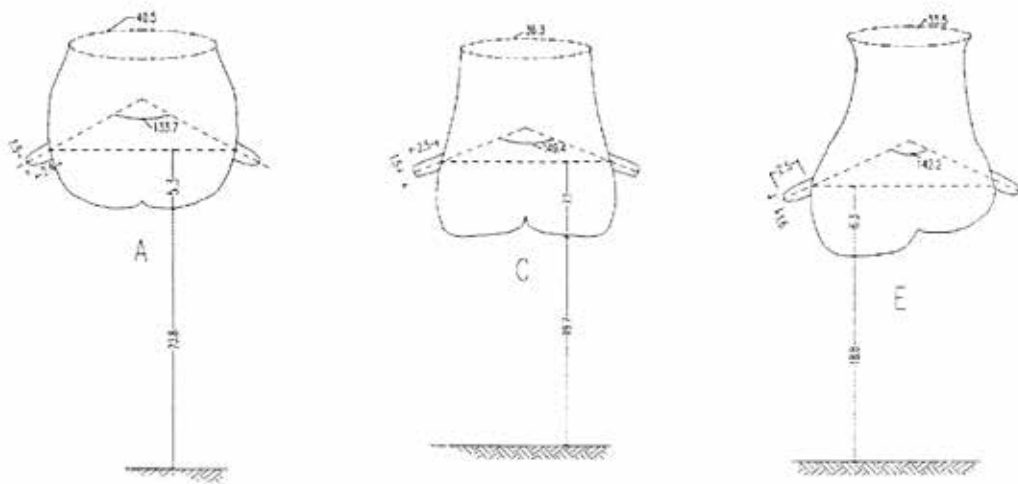


Figura 1. Classificazione delle mammelle in funzione della conformazione

Negli allevamenti controllati (Tabella 1), la presenza di pecore con mammelle ben conformate con corretto impianto dei capezzoli e prevalentemente senza alterazioni è risultata compresa in un range tra il 56% e l'82%, la distribuzione delle conformazioni con ghiandola mammaria allungata ha mostrato una prevalenza tra il 5% e il 25%, con una discreta presenza di noduli, mentre un'ampia variabilità è stata osservata nei diversi greggi per la percentuale di pecore con mammelle asimmetriche, che è risultata in un intervallo tra il 7% e il 19%, con una elevata presenza di alterazioni e noduli.

		mammella simmetrica	mammella asimmetrica	mammella allungata	tot animali
AZ.A	n°soggetti (%)	182 (79%)	16 (7%)	12 (5%)	210
	Cell.som. (10 ³)	154	2.203	488	1210
AZ.B	n°soggetti (%)	326 (79,9%)	51 (13%)	31 (7,1%)	408
	Cell.som. (10 ³)	173	1202	354	1222
AZ.C	n°soggetti (%)	341 (77%)	69 (16%)	28 (6%)	438
	Cell.som. (10 ³)	120	2041	309	1180
AZ.D	n°soggetti (%)	273 (82%)	40 (12%)	21 (6%)	334
	Cell.som. (10 ³)	407	1412	1071	1420
AZ.E	n°soggetti (%)	139 (56%)	48 (19%)	62 (25%)	249
	Cell.som. (10 ³)	151	1513	309	1695

Tabella 1. Distribuzione delle tipologie di mammella in funzione delle classi considerate

Quantificando quanto osservato dal nostro studio, le mammelle ben conformate hanno prodotto mediamente il 20% e il 30% in più di latte rispetto alle mammelle allungate e asimmetriche. In termini economici, per ogni pecora allevata con mammelle asimmetriche e allungate si possono stimare perdite economiche per ridotta produzione di latte, rispettivamente di circa 36 e 24 euro/ capo/lattazione. Data l'im-

portanza che riveste il costo di alimentazione sui costi totali, non si possono non considerare i fabbisogni alimentari di una pecora da latte, dal momento che esiste una grande incidenza della quota di mantenimento sui fabbisogni totali, facendo risultare più conveniente allevare animali con un buon livello produttivo. E' evidente che produrre la stessa quantità di latte con un numero inferiore di pecore significa anche avere meno pecore da mungere, da tosare, da vaccinare, da sverminare ed un minor carico di animali sul pascolo. Per il miglioramento dell'efficienza produttiva, in un allevamento, la percentuale di pecore che presentano atrofie della mammella non dovrebbe superare il 10% del totale del gregge. Tra le perdite economiche legate alla minore produzione latte, occorre anche considerare la ridotta crescita degli agnelli e il conseguente minor peso alla macellazione.

Tabella 2. Contenuto in cellule somatiche in funzione delle tipologie di mammelle

Tipologia mammella	Range (media)	Cellule somatiche
Simmetrica	53-82% (69,4%)	181.000
Asimmetrica	7-19% (13,4%)	1.631.000
Allungata	5-25% (8,62)	446.000

Da un punto di vista sanitario, le mammelle con asimmetrie hanno contenuti cellulari molto più elevati rispetto alle mammelle simmetriche (tabella 2), probabilmente dovuti alla presenza di infezioni intramammarie recenti o pregresse. Infatti al maggior contenuto cellulare corrisponde una elevata percentuale di mammelle infette (19,6%), contrariamente, nelle mammelle con conformazione simmetrica (minori contenuti cellulari) il tasso d'infezione si riduce drasticamente (4,9%) (Tabella 3).

Tabella 3. Percentuale d'infezione mammaria in funzione delle tipologie di mammelle

Tipologia mammella	Range (media)
Simmetrica	0.50-9.7% (4.9%)
Asimmetrica	10-25% (19.6%)
Allungata	4-16.6% (11.9)

Per la valutazione dello stato sanitario dell'allevamento, un ottimo strumento, di facile esecuzione ed economico è il monitoraggio del latte di massa, da effettuare con cadenza quindicinale, per la determinazione del contenuto in cellule somatiche e la carica batterica mentre all'inizio dell'attività produttiva, dopo l'allontanamento degli agnelli, la ricerca di microrganismi indicati come patogeni maggiori quali *Staphylococcus aureus* (responsabile della mastite nera) e *Streptococcus agalactiae* (responsabile della mastite bianca). Dal contenuto in cellule somatiche è possibile stimare la percentuale di pecore presenti nel gregge con infezioni intramammarie come mostra la tabella 4.

Dal controllo batteriologico è possibile individuare la presenza dei più comuni microrganismi infettivi in particolare per lo *S.aureus*, è possibile stimare il grado di infezione circa la presenza di animali con mastiti sostenute da questo contagioso. In un recente studio eseguito in 20 allevamenti ovin, risultati positivi a *S.aureus* nel latte di massa, la prevalenza di animali infetti è stata relativamente bassa (4.0%).

Tabella 4. Percentuale d'infezione mammaria in funzione delle tipologie di mammelle

Cellule somatiche nel latte di massa (cell/ml)	% di pecore con infezioni intramammarie
< 400.000	5.1%
400.000-600.000	9.2%
600.000-800.000	12.5%
800.000-1.000.000	15.5%
1.000.000-1.400.000	20.6%
>1.400.000	30.9%

Per quanto riguarda la gestione sanitaria della mammella, è consigliabile un controllo mirato dei soggetti in lattazione all'inizio dall'attività produttiva, dopo l'allontanamento degli agnelli, e in prossimità della messa in asciutta, selezionando prevalentemente gli animali con mammelle asimmetriche e quelle che presentano alterazioni e noduli. In questo modo si aumenta la possibilità di isolare ed identificare i microrganismi responsabili dei casi di mastite clinica e sub-clinica e di predisporre piani d'intervento specifici.

Dato il suo principale impiego alla trasformazione casearia, non di poca importanza riveste l'influenza che ha la conformazione dell'apparato mammario sulle caratteristiche tecnologiche del latte ovino. È noto che la resa casearia e la qualità dei formaggi dipendono dall'attitudine del latte a coagulare, la quale è influenzata oltre che dalla sua qualità igienico-sanitaria anche dal contenuto in sostanze casearie utilizzabili: grasso e proteine.

Un elevato indice di caseina, % di caseina sulle proteine totali, migliora la struttura della cagliata, e di conseguenza incrementa la resa in formaggio. Alterazioni della mammella come asimmetrie, determinano una riduzione dell'indice caseinico e un aumento della percentuali di "latte non reattivi" alla coagulazione presamica (tabella 5).

Alla luce di quanto detto, la conformazione della mammella ovina può essere inserita tra i parametri di controllo aziendale in relazione ad evidenti interazioni con aspetti sanitari e di qualità del latte. In un contesto in cui le prospettive per un aumento del prezzo del latte alla stalla sono lontane, risulta fondamentale migliorare l'efficienza produttiva attraverso una gestione aziendale attenta e consapevole.

Tabella 5. Parametri produttivi, qualitativi e sanitari del latte in funzione della morfologia della mammella.

Parametri	Simmetrica	Allungata	Asimmetrica
kg/mungitura	0,874A	0,684 B	0,574 C
Grasso,%	5,35 A	6,08 B	5,84 A
Proteine,%	5,35 A	6,05 B	5,95 B
Lattosio,%	5,19 A	5,07 B	4,65 C
Ind.caseina,%	78,95 A	79,09 A	77,68 B
Tempo coagulaz , min	20,95	20,64	20,70
Consistenza coagulo, mm	44,52	45,47	41,22
Velocità formaz.coag, min	1,65	1,61	1,72
pH	6,50 A	6,53 A	6,60 B
°SH	10,04 A	10,20 A	8,68 B
% campioni non coag	12,28 A	26,31 B	50 C

Cellule somatiche: qualità del latte e dei derivati ovicaprini

Gilberto Giangolini

Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana Mariano Aleandri
Via Appia Nuova, 1411 – 00178 Roma - Centro di Referenza Nazionale per la Qualità del Latte e dei Prodotti Derivati degli Ovini e dei Caprini (C.Re.L.D.O.C.)

Introduzione

Il conteggio delle cellule somatiche nel latte è da tempo accettato come indicatore dello stato sanitario della mammella.

Le mastiti, ed in particolare le forme sub-cliniche, sono la causa principale dell'aumento delle cellule somatiche nel latte ovino e caprino. Tra gli agenti eziologici delle forme sub-cliniche, lo Stafilococco coagulasi negativo (SCN) risulta essere quello prevalente.

Studi effettuati sul latte di massa ovino hanno messo in evidenza una relazione elevata ($R^2 = 0,795$) tra la media geometrica annuale delle cellule somatiche del latte di massa e la percentuale di pecore affette da mastite sub-clinica (5).

Va comunque considerato che l'aumento del numero delle cellule somatiche può essere causato anche da fattori non infettivi come il numero dei parti, lo stadio di lattazione, la stagione, la fase estrale e la quantità di latte prodotta.

Numerosi studi sono stati effettuati per determinare il valore discriminante di cellule somatiche tra animali sani e animali affetti da mastite. In uno studio condotto nel latte individuale ovino, proveniente da greggi presenti nelle regioni Lazio, Toscana, Sardegna e Sicilia, il valore discriminante delle cellule somatiche è risultato di 265.000 cell/ml (29). Questo valore, sebbene ottenuto su razze diverse, è comparabile con quanto emerso in altri studi: 200.000 cell./ml (30), 250.000 cell./ml (4) (27) (23).

In uno studio condotto sulla razza Sopravissana con prelievi di emimammella eseguiti in ante e post mungitura, sono stati riscontrati valori discriminanti di 157.000 cell/ml in ante mungitura e di 187.000 cell/ml in post mungitura (8). In uno studio analogo sulla razza Sarda si sono riscontrati valori discriminanti di 96.000 cell./ml in ante mungitura e di 181.000 cell./ml in post mungitura (7).

Per quanto riguarda il latte caprino sono stati registrati valori di cellule somatiche (media geometrica) pari a 480.000 cell./ml per animali negativi all'esame batteriologico e 1.131.000 cell./ml per animali positivi (29). Il valore discriminante calcolato da Bronzo et al. (9) sul latte di capra è risultato di 846.000 cell./ml mentre Persson Y. et al. (2011) hanno riscontrato un valore di 345.000 cell/ml (25).

Dalla numerosa bibliografia esistente emerge che l'aumento del numero delle cellu-

le somatiche può avere un'influenza sulla produzione e sulla percentuale dei componenti del latte.

1. Qualità e produzione del latte

Molti studi sono stati eseguiti per verificare se in caso di mastite l'aumento delle cellule somatiche comporti una diminuzione della produzione di latte nella specie ovina e caprina.

Quantificare questo effetto non è semplice, viste le numerose variabili che possono influire sul numero delle cellule somatiche, come l'agente eziologico responsabile della mastite, l'infezione monolaterale, la variabilità di risposta individuale ed i fattori ambientali e fisiologici.

In dipendenza delle condizioni sperimentali, i risultati ottenuti dai diversi studi effettuati sono stati diversi ma quello che emerge, dalla maggior parte di essi, è una diminuzione della produzione ed un cambiamento nella composizione del latte che influenza la qualità e la quantità dei singoli componenti.

Lo stato sanitario della mammella influenza significativamente la produzione di latte: in una sperimentazione su pecore di razza Lacaune si è registrata una riduzione del 30% nei soggetti con infezione monolaterale e del 40% nei soggetti con infezione bilaterale, rispetto a soggetti sani. La media delle cellule somatiche era di 144.000 cell/ml nei soggetti sani, di 575.000 cell/ml nei soggetti con infezione monolaterale e di 954.000 cell/ml nei soggetti con infezione bilaterale (13).

Leitner G. et al. (2004) (16) su pecore di razza Israeli-Assaf con una emimammella sana e la contro laterale infetta da SCN hanno riscontrato che la produzione di latte nelle mammelle infette era significativamente più bassa (0,36 Kg/mungitura) rispetto a quelle sane (0,76 Kg/mungitura). La media delle cellule somatiche delle mammelle sane era di 311.000 cell./ml mentre nelle mammelle infette era di 4.999.000 cell./ml. La concentrazione dei componenti nel latte prodotto dalle mammelle infette (grasso, proteine, lattosio, caseina) era significativamente più bassa rispetto a quelle sane mentre la concentrazione delle proteine del siero e dell'albumina era significativamente più alta.

Olechnowicz J. et al. (2010) (22) studiando l'aumento delle cellule somatiche nel latte ovino, hanno osservato che il latte, proveniente dai soggetti con una emimammella o da entrambe le emimammelle con cellule somatiche superiori a 250.000 cell/ml, avevano una ridotta produzione che oscillava dal 15,89% al 30,22%.

Gonzalo C. et al. (2002) (15) hanno riscontrato nel latte di pecore di razza Churra, che le produzioni più elevate erano registrate nelle pecore con entrambe le emimammelle sane, seguite da quelle infette da patogeni minori (SCN). Le più basse produzioni sono state registrate da pecore con infezione bilaterale e unilaterale sostenute da patogeni maggiori. Le perdite di produzione sono risultate comprese tra 10,1% e 8,8% rispettivamente con infezione bilaterale e monolaterale. Questa diminuzione di produzione era associata ad un numero delle cellule somatiche di 1.905.000 cell/ml e 977.000 cell/ml.

In seguito alla mastite si ha un indebolimento della barriera sangue-latte che determina un passaggio di proteine del siero e urea nel latte, una diminuzione del contenuto in caseina ed un aumento delle proteine totali, dovuto all'aumento della siero-albumina, inoltre si verifica una maggiore attività proteolitica dovuta agli enzimi batterici e agli enzimi rilasciati dalle stesse cellule somatiche.

La caseina è soggetta ad una maggiore idrolisi che determina un decremento della β -caseina totale e della β_2 -caseina e un incremento della γ -caseina (6). Se si confronta il latte secreto da mammelle sane e infette, si registra inoltre una diminuzione della percentuale di lattosio e di grasso (6).

Un ruolo importante nel decadimento della qualità del latte è dovuto alla plasmina (PL), un enzima proteolitico che è presente nel latte insieme ad un sistema di precursori, attivatori e inibitori che regolano la sua attività. Si trova nel latte sotto forma di precursore non attivo il plasminogeno (PLG) il quale in seguito all'azione di attivatori del plasminogeno (PA) porta alla produzione della sua forma attiva la PL che agisce come proteasi, a sua volta l'attività della PL è regolata da inibitori dell'enzima stesso.

La PL tende ad associarsi alle caseine, agendo soprattutto sulla α_{s2} -caseina e la β -caseina formando piccoli peptidi, γ -caseine e proteoso-peptoni.

L'aumento delle cellule somatiche è correlato con una più elevata proteolisi dovuta all'attivazione del sistema PA-PLG-PL, e conseguentemente con un incremento dell'indice di proteolisi (16).

L'attivatore del PLG e l'attività della PL sono significativamente più alti nelle mammelle infette rispetto a quelle sane (16).

L'idrolisi enzimatica della caseina libera peptidi che regolano a livello locale la funzione della ghiandola mammaria. Un peptide derivato dell'attività della plasmina sulla β -caseina, riduce la risposta cellulare all'attività secretoria del latte in bovini e capre. Questo peptide riduce l'uscita del lattosio e altri componenti osmotici dagli alveoli nel lume mammario, con un possibile incremento della concentrazione delle proteine e grasso (28).

Gli idrolizzati della caseina non determinano solo una riduzione del contenuto in caseina, che non è più disponibile per la cagliata, ma svolgono un ruolo attivo nel ritardare la coagulazione del latte, compromettendo la qualità stessa della cagliata (20). Pirisi et al., (2000) (24) studiando i comportamenti di campioni di latte di pecora divisi in tre classi (<500.000 ; $500.000 < SCC < 1.000.000$ e $1.000.000 < SCC < 2.000.000$ cell/ml) hanno registrato, per quanto riguarda la classe più elevata, un aumento di pH, una diminuzione del contenuto in lattosio ($P < 0,01$) ed un aumento del contenuto in sieroproteine solubili. Il contenuto elevato di proteine del siero nel latte con elevate cellule somatiche determina un aumento, seppur non significativo, nel contenuto proteico vero e nel rapporto caseina:proteina. Il contenuto in caseina è rimasto lo stesso nelle tre classi esaminate. Non sono state riscontrate differenze per quanto riguarda l'azoto non proteico e l'urea, mentre è stato registrato un aumento della caseina solubile ($P < 0,05$) nella classe con cellule somatiche più elevate. Questo può determinare una perdita di siero, proteine e solidi totali nel formaggio.

Per le capre, già al congresso internazionale sulle cellule somatiche di Bella (FG) nel 1994, Zeng & Escobar avevano registrato una correlazione negativa tra le cellule somatiche e la produzione ($r = -0,46$).

Leitner et al. (2004) (17) hanno registrato, in uno studio sul latte di emimamme di capra infette da SCN e sane, una produzione significativamente più bassa nelle emimamme infette (0,69 Kg/munta), rispetto alle emimamme sane (0,98 Kg/munta) con un numero di cellule somatiche rispettivamente di 1.750.000 cell/ml e 417.000 cell/ml. Hanno inoltre riscontrato, nel latte delle emimamme infette, una minore concentrazione di lattosio ed un aumento delle proteine totali in seguito all'aumento delle sieroproteine mentre la concentrazione del grasso non ha evidenziato differenze significative. L'attivatore del plasminogeno e l'attività della plasmina erano significativamente più alti nelle emimamme infette rispetto a quelle sane.

Dalla degradazione delle proteine hanno origine i proteoso peptoni, che sono risultati più alti nel latte delle emimamme infette da SCN rispetto al latte delle emimamme sane: nelle capre sono risultati maggiori di 1,5 volte mentre nelle pecore di 2,4 volte (16) (17).

I risultati dei controlli su latte individuale di capre da 12 allevamenti e diverse razze nel periodo 2003-2010 hanno messo in evidenza una diminuzione della produzione di latte che va dallo 0,5% al 12,9% nella razza Alpina, dallo 0,4% al 29,1% nella Nubiana e dallo 0,2% al 15,4% nella Saanen (2).

Leitner G. et al. (18) in uno studio teso a stimare la perdita di produzione di latte e cagliata dovuta all'infezione delle mammelle hanno evidenziato che con una percentuale di mammelle infette pari al 25%, 50% e 75% era associata una perdita di produzione che andava dallo 0,8% al 2,3% mentre la perdita di cagliata andava dal 3,3% al 9,8%.

2. Attitudine alla caseificazione

L'attitudine alla caseificazione è determinata attraverso l'uso del lattodinamografo che consente di determinare il tempo di coagulazione (RCT), la velocità di formazione del coagulo (K20) e la consistenza del coagulo (A30).

Numerosi autori hanno messo in relazione l'attitudine alla caseificazione del latte con il numero delle cellule somatiche registrando un aumento del tempo di coagulazione, della velocità di formazione del coagulo ed una diminuzione della consistenza del coagulo, in latte con cellule somatiche elevate (26) (21) (11).

Sono state osservate correlazioni significative con le cellule somatiche per questi tre parametri su campioni di latte individuale di razza Sarda: RCT $r = 0,43$ ($p < 0,01$); K20 $r = 0,41$ ($p < 0,01$); A30 $r = -0,43$ ($p < 0,01$) (21).

Giangolini et al. (2004) (14) su campioni di latte di massa hanno riscontrato correlazioni più basse: RCT $r = 0,19$ ($p < 0,01$); K20 $r = 0,24$ ($p < 0,01$); A30 $r = -0,24$ ($p < 0,01$) (14). Campioni di latte di razza Comisana con cellule somatiche < 500.000 cell/ml hanno fatto registrare un valore più basso del tempo di coagulazione ed una più alta consistenza del coagulo rispetto a latte con cellule somatiche $> 1.000.000$ cell/ml (1).

Battacone G. et al. (2005) (3) su campioni di latte individuale di razza Sarda hanno riscontrato le seguenti correlazioni: RCT $r=0,30$ ($p<0,01$); K20 $r=0,38$ ($p<0,01$); A30 $r=-0,17$ ($p<0,01$) (3). Nello stesso studio si è riscontrato un peggioramento dei parametri di coagulazione all'aumentare del contenuto in Plasmina nel latte con un aumento del tempo di coagulazione e una diminuzione della consistenza del coagulo. Come già detto l'attività della Plasmina è associata all'alterazione dell'epitelio mammario, questo determina un peggioramento della qualità del latte ed anche delle sue caratteristiche di coagulazione e resa in formaggio (3).

Molti studi hanno osservato che l'attività della plasmina aumenta con l'aumento delle cellule somatiche: campioni di latte con valori di cellule somatiche $>2.000.000$ cell/ml rispetto a campioni di latte con cellule somatiche <500.000 cell/ml registrano una più elevata attività del Plasminogeno, indipendentemente dallo stadio di lattazione (1).

In pecore di razza Israeli-Assaf con una emimammella sana e la contro laterale infetta da SCN la resa in cagliata nelle mammelle infette è risultata significativamente inferiore ($P<0,0001$) rispetto a quelle sane. Questo è correlato con contenuti più bassi di caseina ed un contenuto più alto di proteoso peptoni del latte (16).

Pirisi et al. (2000) (24) hanno riscontrato che, in corrispondenza di un contenuto in cellule somatiche elevato, si verifica un rallentamento della coagulazione, una difficoltà nella formazione della struttura del coagulo ed una perdita più elevata di proteine del siero nella produzione di formaggio. Nello stesso studio i dati relativi alla composizione del formaggio non hanno evidenziato sostanziali differenze ma solo una tendenza ad avere più acqua e meno grasso nei formaggi prodotti con latte dove le cellule somatiche risultavano elevate ($>1.000.000$ cell/ml).

Jaeggi et al., (2003) (19) hanno registrato nella produzione di formaggio di pecora da latte con cellule somatiche elevate, un incremento dell'umidità del formaggio dovuto alla più bassa proprietà di spurgo del siero nel coagulo. Hanno inoltre osservato differenze di composizione del formaggio Machego ottenuto da latte di pecora con differenti livelli di cellule somatiche: l'aumento delle cellule somatiche determina una riduzione di grasso nel formaggio e di azoto non proteico in tutte le fasi della stagionatura. Dopo tre mesi di stagionatura i formaggi ottenuti da latte con elevate cellule somatiche presentavano livelli più alti di acidi grassi liberi.

Albezio et al. (2004) (1) nella produzione di Canestrato Pugliese prodotto da latte con cellule somatiche elevate hanno osservato nella cagliata fresca, un valore più basso di grasso, più alto di umidità e pH.

Per quanto riguarda il latte di capra Leitner et al. (2004) (17) hanno osservato, in latte proveniente da emimammelle affette da mastite subclinica, una diminuzione nella produzione di cagliata ed un incremento del tempo di coagulazione.

Chen S.X. et al. (2010) (10) hanno studiato il latte prodotto da capre Alpine, senza evidenti segni di mastiti cliniche, diviso in 3 classi di cellule somatiche (<500.000 ; da 500.000 a $1.000.000$; da $1.000.000$ a $1.500.000$ cell/ml). Nelle tre classi non si sono

riscontrate differenze nel contenuto in grasso, proteine e solidi totali. Nessuna differenza significativa è stata riscontrata anche per il contenuto in caseina e resa in formaggio. Sono invece risultate peggiori le caratteristiche sensoriali e la consistenza dei formaggi prodotti con latte con CS appartenenti alla classe più elevata rispetto alle altre due classi. Il contenuto in Acidi Grassi Liberi era aumentato durante la stagionatura in relazione al numero delle cellule somatiche. Gli autori concludono che le cellule somatiche nel latte di capra non influenzano la resa in formaggio fresco ma determinano un peggioramento delle caratteristiche sensoriali durante la stagionatura. Fantuz et al. (2001) (12) hanno riscontrato in latte individuale di capre Saanen in tarda lattazione, un aumento significativo delle cellule somatiche ($r = 0,38$ ($P < 0,01$)) e del pH ($r = 0,33$ ($P < 0,01$)) in corrispondenza dell'aumento della plasmina. Sono state riscontrate correlazioni significative negative tra plasmina e contenuto in caseina ($r = -0,24$), tra plasmina e rapporto caseina/proteine ($r = -0,50$), tra attivatore del plasminogeno e rapporto caseina/proteine ($r = -0,269$). La plasmina e l'attivatore del plasminogeno sono risultati correlati positivamente con la velocità di formazione del coagulo (rispettivamente $r = 0,45$; $r = 0,38$). Una correlazione negativa è stata riscontrata tra l'attività della plasmina e la consistenza del coagulo ($r = -0,22$ ($P < 0,05$)). La plasmina e l'attivatore del plasminogeno sono risultati correlati positivamente con il numero delle cellule somatiche, rispettivamente $r = 0,33$ ($P < 0,01$), $r = 0,49$ ($P < 0,01$).

Conclusioni

Dalla letteratura scientifica consultata emerge che l'aumento delle cellule somatiche, in seguito alla mastite, determina una riduzione della produzione del latte a cui in genere è associato un peggioramento in termini di quantità e qualità dei suoi costituenti e dell'attitudine alla caseificazione. In particolare la PL esercita un'azione proteolitica sulla caseina e sulla produzione di peptidi che interferiscono sulla secrezione del latte. In considerazione dell'elevata correlazione tra il numero delle cellule somatiche nel latte di massa e la percentuale di mastiti presenti in allevamento, l'utilizzo di un limite per le cellule somatiche su tale tipologia di latte contribuirebbe ad una corretta gestione delle mastiti, in particolare di quelle sub-cliniche sostenute da SCN, che possono rappresentare più del 70% delle mastiti sub-cliniche.

In mancanza di un limite legislativo per le cellule somatiche del latte ovino e caprino, si potrebbe incentivare l'introduzione di un sistema di pagamento in base alla qualità che può sicuramente contribuire alla diminuzione delle cellule somatiche nel latte di massa. Nell'adottare tale sistema di pagamento è però necessario stabilire con precisione la frequenza ed il periodo dei campionamenti in considerazione dei fattori non infettivi che possono determinare l'aumento delle cellule somatiche.

Sono necessarie inoltre attività di formazione sulle modalità di gestione dell'allevamento per la profilassi delle mastiti che prendano in considerazione sia le corrette pratiche igienico-sanitarie che i fattori predisponenti.

Bibliografia

1. Albezio M., Caroprese M., Santillo A., Marino R., Taibi L., and Sevi A. (2004) Effects of somatic cell count and stage of lactation on plasmin activity and cheese-making properties of ewe milk, *J. Dairy Sci.* 87:533-542.
2. Barron-Bravo O.G., Gutierrez-Chavez A.J., Angel-Sahagun C.A., Montaldo H.H., Shepard L., Valencia-Pasadas M. (2013) *Losses in milk yield, fat and protein contents according to different levels of somatic cell count in dairy goats.* *Small Ruminant Research*, 113, 421-431
3. Battacone G., Cannas E.A., Mazzette A., Dimauro C., Enne G. (2005) *Why does the increase of plasmin worsen the coagulation properties of milk in dairy sheep?* *Ital. Anim. Sci.* vol.4 (Suppl.2), 342-344
4. Beltran de Heredia F. & J. Iturritza (1988) *Recuento de células somáticas en leche de oveja Latxa. Determinacion del umbral fisiologico.* *Medecina Veterinaria*, 5, 33-38
5. Berthelot X., Lagriffoul G., Concordet D., Barillet F., Bergonier D. (2006) *Physiological and pathological thresholds of somatic cell counts in ewe milk.* *Small Ruminant Research*, 62, 27-31
6. Bianchi L., Bolla A., Budelli E., Caroli A., Casoli C., Pauselli M., and Duranti E. (2004) *Effect of udder health status and lactation phase on the characteristics of Sardinian ewe milk.* *J. Dairy Science*, 87:2401-2408.
7. Boselli C., Amatiste S., Giangolini G., Filippetti F., Tammaro A., Giacinti G., Rosati R. (2007) *Discriminant value of somatic cell count in premilking and postmilking between infected and uninfected half-udders Sarda ewe milk.* 15th International Congress of Mediterranean Federation for Health and Production of Ruminants, 15-19 May 2007 Kusadasi, Turchiye.
8. Boselli C., Giangolini G., Arcuri F.S., Filippetti F., Amatiste S., Rosati R. (2008) *Razza ovina Sopravissana: valore discriminante delle cellule somatiche tra emimammelle sane ed infette e composizione del latte.* *Supplemento Large Animal Review*, 14, 153.
9. Bronzo V., Scaccabarozzi L., Locatelli C., Casula A., Zanatta G. (2008) *Infezioni mammarie e contenuto in cellule somatiche in allevamenti di capre da latte lombardi.* *Atti del XVIII Congresso Nazionale S.I.P.A.O.C., Large Animal Review*, 14(Suppl.4): 155.
10. Chen S. X., Wang J.Z., Van Kessel J.S., Ren F.Z., and Zeng S.S. (2010) *Effect of somatic cell count in goat milk on yield, sensory quality, and fatty acid profile of semisoft cheese.* *J. Dairy Science*, 93:1345-1354
11. Duranti E. & Casoli C., (1991) *Variazione della composizione azotata e dei parametrolattodinamografici del latte di pecora in funzione del contenuto di cellule somatiche.* *Zoot. Nutr. Anim.*, 17, 99-105.
12. Fantuz F., Polidori F., Cheli F., Baldi A., (2001) *Plasminogen activation system in goat milk and its relation with composition and coagulation properties.* *J. Dairy Science*, 84:1786-1790
13. Giacinti G., Amatiste S., Tammaro A., Boselli C., Ronchi B., Rosati R. (2010) *Effetti di infezioni mammarie monolaterali sulla produzione e composizione del latte in pecore di razza Lacaune.* XIX Congresso SIPAOC, Large Animal Review, Supplemento al n.5, Ottobre 2010, Anno 16.
14. Giangolini G., Amatiste S., Battisti S., Boselli C., Filippetti F., Rosati R., Fagiolo A. (2004) *Caratteristiche lattodinamografiche del latte ovino di massa di razza sarda proveniente da greggi allevate in due province della regione Lazio.* XVI S.I.P.A.O.C., Siena.
15. Gonzalo C., Ariznabarreta A., Carriedo J.A., and San Primitivo F. (2002) *Mammary pathogens and their relationship to somatic cell count and milk yield losses in dairy ewes.* *J. Dairy Science*, 85:1460-1467

16. Leitner G., Chaffer M., Shamay A., Shapiro F., Merin U., Ezra E., Saran A., and Silanikove N. (2004) *Changes in milk composition as affected by subclinical mastitis in sheep*. J. Dairy Science, 87:46-52
17. Leitner G., Merin U., and Silanikove N. (2004) *Changes in milk composition as affected by subclinical mastitis in goats*. J. Dairy Science, 87:1719-1726
18. Leitner G., Silanikove N. Merin U. (2008) *Estimate of milk and curd yield loss of sheep and goats with intramammarie infection and its relation to somatic cell count*. Small Ruminant Research, 74:221-225.
19. Jaeggi J.J., Govindasamy-Lucey S., Berger Y.M., Johnson M.E., McKusick B.C., Thomas D.L., and Wendorff. *Hard ewe's milk cheese manufactured from milk of three different groups of somatic cell counts*. J. Dairy Science, 86:3082-3089, (2003)
20. Merin U., Fleminger G., Komanovsky J., Silanikove N., Bernstein S., & Leitner G. (2008) *Subclinical udder infection with Streptococcus dysgalactiae impairs milk coagulation, properties: the emerging role of proteose-peptone*. Dairy Science and Technology, 88, 407-419.
21. Nudda A., Feligni M., Battacone G., Murgia P., Pulina G. (2001). *Relationship between somatic cells count, whey protein and coagulation properties in sheep milk*. Congresso ASPA XIV, Firenze, Italy, pp.511-513,
22. Olechnowicz J., Sobek Z., Jaskowski J.M., Antosik P., and Bukowska D. (2010) *Connection of somatic cell count and milk yield as well as composition in dairy ewes*. Archiv Tierzucht 53, 1, 95-100.
23. Pengov A., (2001) - *The role of coagulase-negative Staphylococcus spp. And associated somatic cell counts in the ovine mammary gland*. J. Dairy Science, 84:572-574.
24. Pirisi A., Piredda G., Corona M., Pes M., Pintus S., Ledda A. (2000), *Influence of somatic cell count on ewe's milk composition, cheese yield and cheese qualità*. Proceeding of Sixth Great Lakes Dairy Sheep Symposium, Guelph, Canada, pp. 47-59.
25. Persson Ylva, Olofsson Ida (2011) – *Direct and indirect measurement of somatic cell count as indicator of intramammary infection in dairy goats*. Acta Veterinaria Scandinava, 53:15.
26. Raynal-Ljutovac K., Pirisi A., De Cremoux R., Gonzalo C. (2007). *Somatic cells of goat and sheep milk: analytical sanitary, productive and technological aspects*. Small Ruminant Research, 68, 126-144.
27. Romeo M., Esnal A., Contreras A., Aduriz J.J., Gonzalez L., Marco J.C. (1994). *Uso del contenuto di cellule somatiche o di prove indirette nel latte per la diagnosi di mastite subclinica nelle pecore* - Atti International symposium: "Somatic cells and milk of small ruminants". Bella (PZ), 23-28.
28. Silanikove N., Shamay A., Sinder D., and Moran A. (2000). *Stress down regulates milk yield in cows by plasmin induced -casein product that blocks K⁺ channels on the apical membranes*. Life Sci. 67:2201-2212.
29. Rosati R., Militello G., Boselli C., Giangolini G., Amatiste S., Brajon G., Gazzoni S., Casini M., Scatassa M., Bono P., Cannas A., Mugoni G., Simula M., Denti G., Gradassi S., Fagiolo A., (2005). *Cellule somatiche nel latte ovino e caprino: definizione del valore medio nazionale e del valore fisiologico*. Scienza e Tecnica Lattiero Casearia, 56 (3).
30. Ruffo G., Moroni P., Zecconi A., Cuccuru C., Contini A. (1995). *Relazione tra conteggio delle cellule somatiche del latte ovino ed infezioni mammarie* – Quaderni dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna, 235-247.

Situazione francese riguardo al contenuto in cellule somatiche nel latte di pecora

Gilles Lagriffoul

INRA - INPT-ENSAT - INPT-ENVY, UMR 1388 GenPhySE Génétique Physiologie et Systèmes d'Élevage. Centre de recherche de Toulouse, Auzeville, France.

IDELE, Institut de l'Élevage, France.

In Francia, il contenuto in cellule somatiche del latte (CCS) è misurato di routine nella regione del Rayon de Roquefort (situato nel sud del massiccio centrale, primo bacino di produzione francese con 175 milioni di litri di latte e quasi 800 000 pecore di razza Lacaune) e dei Pirenei Atlantici (situata a ovest dei Pirenei, secondo bacino di produzione con 62 milioni di litri e 470 pecore di razza Manech e Basco Bearnaise). La determinazione delle CCS è eseguita di routine sul latte di massa da tutti i produttori, nell'ambito di un sistema di pagamento del latte a qualità. Vengono effettuate tre analisi per mese. Al contrario, non esiste una misura sistematica delle CCS dal latte individuale, che viene invece realizzato nell'ambito dei controlli funzionali o in casi di problemi specifici (piano cellule, superamento delle soglie di penalizzazione, etc). Nel 2012, le medie del CCS a livello di bacino erano di 540 000 cellule/ml nel Rayon de Roquefort e di 911 000 cellule/ml nei Pirenei Atlantici, con una riduzione marcata delle CSS nel Rayon tra il 1996 e il 2006 e ad un livello stabile, se non in crescita, nei Pirenei atlantici.

Come spiegare questa diversa evoluzione nei due bacini di produzione di latte di pecora Francesi?

Negli anni 90, sono cominciati diversi programmi di ricerca e sviluppo. Le domande trattate riguardavano:

- l'origine delle CCS nel latte di pecora: quali germi responsabili delle mastiti sub-cliniche e cliniche? quali le fonti di infezione? quali fattori non infettivi di variazione delle CCS?
- La dinamica delle infezioni
- I fattori di rischio
- Le soglie di interpretazione delle CCS a livello individuale o di gregge
- Le modalità di introduzione della resistenza alle mastiti sub-cliniche nella selezione degli ovini da latte

I risultati ottenuti con questi programmi sono stati valorizzati in piani di controllo delle cellule somatiche che combinano:

- azioni di sensibilizzazione degli allevatori nei confronti del controllo delle CCS per mezzo di schede tecniche,
- azioni di prevenzione, il cui obiettivo è quello di ridurre la pressione delle infezioni quindi limitare la trasmissione
- azioni curative volte a eliminare le infezioni e agire sui serbatoi di infezione (soggetti infetti)
- Il miglioramento genetico per incrementare la resistenza delle pecore alle mastiti attraverso l'integrazione delle CCS tra gli obiettivi di selezione della razza Lacaune.

In concomitanza con tali azioni tecniche, le CCS sono state integrate nelle griglia di pagamento del latte a qualità, a partire dagli anni 90 nel Bacino del Roquefort e da due anni anche nei Pirenei. Le soglie e l'incidenza sul prezzo differiscono secondo il bacino. In entrambi i casi, al di sotto di 500 000 cellule/ml è possibile un bonus. Le zone senza variazioni di prezzo sono comprese tra 500 000 e 800 000 (nel Rayon) o 1000 000 (nei Pirenei). Al di sopra di queste soglie, viene applicata una riduzione del prezzo del latte.

Per quanto riguarda la sensibilizzazione, bisogna sottolineare, in particolare nei Pirenei Atlantici, lo scarto notevole tra allevatori che conferiscono il latte e quelli che lo trasformano in azienda. Tale scarto nel 2011 superava le 300 000 cellule/ml con una media di 550 000 cellule/ml per gli allevatori che trasformavano in azienda e di circa 900 000 per quelli che conferivano.

Allo stesso modo, negli allevamenti con assistenza tecnica i valori di CCS erano in media inferiori di 100 000 cellule/ml rispetto a quelli senza.

Un programma specifico («piano cellule») per gli allevamenti con cellule somatiche elevate

Questo supporto è accessibile per gli allevamenti che presentano un CCS elevato, superiori a 800 000 cellule/ml nel Rayon o a 1 500 000 cellule/ml nei Pirenei.

Si tratta di stabilire, tra l'allevatore e l'organismo tecnico, i fattori di rischio (campagna N), per mettere a punto un piano di interventi adatto alla situazione dell'allevamento (campagna N+1) con l'obiettivo di ridurre le cellule somatiche per la campagna N+2.

Per esempio, nei Pirenei, dal 2013, il «piano cellule» è organizzato nella maniera seguente:

- la prima visita è dedicata alla diagnosi dei fattori di rischio dell'allevamento secondo un questionario d'indagine condiviso dall'insieme degli attori della filiera che mette in particolare l'accento sulle tecniche di mungitura.

- In un secondo tempo, vengono realizzate due determinazioni individuali delle cellule somatiche e sull'insieme delle pecore del gregge. In occasione di una seconda visita si fa il punto sulle azioni intraprese in seguito alle raccomandazioni date nel corso della prima visita e si analizzano i risultati dei prelievi individuali. Si stabilisce inoltre una lista degli animali da trattare o da riformare.
 - Durante la campagna produttiva N+1, si procede ad un bilancio dei risultati delle CCS. Se è il caso, vengono riviste le principali raccomandazioni da seguire. Infine si realizza un'intervista all'allevatore per conoscere il suo punto di vista.
- In molti casi, questa azione si è tradotta in una sensibile riduzione del valore delle CCS del gregge nell'anno N+1 (valore dimezzato). L'azione è ancora in corso e il bilancio definitivo non è disponibile

A integrazione della profilassi, il miglioramento genetico della resistenza alle mastiti

La selezione sulle CCS è iniziata per la razza Lacaune nel 2002. L'obiettivo era quello di ottenere una diminuzione del valore delle CCS. La valutazione genetica si basa sui dati delle CCS individuali raccolti al momento dei controlli funzionali ufficiali. In pratica, si realizzano 3 misure delle CCS, oltre alla determinazione di grasso e proteine, in occasione dei primi 3 o 4 controlli della pecora (cioè entro i primi 140 g di lattazione). Il campionamento interessa solo le pecore in prima e seconda lattazione. Dal 2007, nella razza Lacaune, l'obiettivo di selezione comprende per il 50 % il miglioramento dei caratteri produttivi (quantità di latte ed il tenore in materia utile) e per il 50 % il miglioramento della morfologia della mammella e delle CCS. Nei Pirenei Atlantici, l'integrazione delle CCS nella selezione delle razze Manech Tête Noire, Manech Tête Rousse et Basco-Béarnaise è ancora in corso.

In conclusione, i piani di controllo del CCS messi a punto in Francia, combinano a livello di gregge delle azioni volte a diminuire la pressione delle infezioni e limitare il numero di nuove infezioni. Il miglioramento genetico contribuisce a completare la profilassi.

Gli esempi del Rayon de Roquefort o degli allevatori che trasformano il latte in azienda nei Pirenei Atlantici, dimostrano che il controllo delle CCS è possibile. Tuttavia esso necessita di un impegno continuo degli allevatori e degli organismi tecnici.

La pressione è forte, considerate le penalità finanziarie sul prezzo del latte, in relazione all'impegno per il piano cellule. Ciò è da mettere in relazione con le importanti regole di igiene per le filiere che usano latte crudo.

I lavori di ricerca e sviluppo continuano per meglio comprendere i meccanismi, aggiornare i riferimenti disponibili, integrare le evoluzioni tecnologiche e migliorare l'assistenza data agli allevatori.

Influenza dell'alimentazione sul contenuto in cellule somatiche nel latte ovino e caprino

A. Nudda, G. Battacone, A. Cannas, A. S. Atzori, G. Pulina

Dipartimento di Agraria, Sezione di Scienze Zootecniche, Università degli Studi di Sassari

Il contenuto in cellule somatiche del latte di pecore e capre (CCS) è, fra i fattori extra-sanitari, influenzato principalmente dagli errori alimentari (formulazione, composizione e somministrazione delle razioni) le cui ripercussioni sistemiche predispongono l'apparato mammario delle lattifere alle infiammazioni e quindi ad una maggiore probabilità di comparsa di mastiti.

Fra gli errori di formulazione alimentare più frequenti in grado di influenzare il CCS si citano le carenze energetiche (Suriyasathaporn et al., 2000; Grinberg et al., 2008; Ingvarsene Moyes, 2013), lo sbilanciato rapporto energia/proteina (Kehrli et al., 2006), le carenze proteiche e/o gli eccessi di NPN nella razione (Kehrli et al., 2006); fra quelli relativi anche alla composizione e somministrazione delle razioni si ricordano i disturbi metabolici quali acidosi o chetosi sub-acute (Leslie et al., 2000). In particolare, l'aumento della concentrazione ematica di beta-idrossibutirrato, indicatore di chetosi sub-clinica, è correlato con l'aumento della incidenza di mastiti e della riduzione dell'attività battericida dei PMN contro i germi patogeni mammari (Leslie et al. 2000; Grinberg et al., 2008).

Un insufficiente apporto vitaminico e minerale con la razione comporta la riduzione dell'integrità strutturale e funzionale del sistema immunitario e, di conseguenza, l'indebolimento delle difese cellulari della mammella (Sordillo et al., 1997). Specifiche insufficienze nutrizionali ed in particolare carenze in microelementi minerali quali Se, Zn, Mn, Fe (Smith et al., 1997; Weiss e Spears, 2006), carenze vitaminiche quali le vit. E, vit. A, beta-carotene, e vit. C (Smith et al., 1997) sono quelle messe maggiormente in relazione con lo stato sanitario della ghiandola mammaria e, di conseguenza, con il CCS nel latte. Il meccanismo di azione deriva dal fatto che diversi micronutrienti sono componenti di enzimi antiossidanti i quali svolgono un ruolo importante nella protezione delle membrane cellulari dai fenomeni di perossidazione: il Se per la glutatione perossidasi (GPx) e lo Zn, il Mn e la vitamina E per la superossidodismutasi (SOD). Nello specifico, questi enzimi hanno una funzione fondamentale nella protezione dell'integrità delle cellule del sistema immunitario per cui, in caso di infezione, la loro carenza peggiora l'attività battericida dei leucociti PMN neutrofili, e di conseguenza riducono le autodifese contro le infezioni intramammarie (Sordillo

et al., 1997). Uno studio condotto sui bovini (Smith et al., 1997) che ricevevano in maniera continua una integrazione con Se (0.3 ppm) e con vitamina E (1000 IU) da 60 giorni pre-parto fino alla fine della lattazione, ha evidenziato una marcata riduzione del CCS nel latte e di altri indicatori di mastite quali il numero di quarti infetti, l'incidenza delle infezioni intramammarie durante la lattazione, ecc.

Effetti positivi sul CCS del latte in seguito alla corretta integrazione minerale e vitaminica sono stati osservati anche negli ovini. La somministrazione di vit. A (5 mg/kg peso corporeo) e Se (0,1 mg/kg peso corporeo) in pecore di razza Comisana in corrispondenza del parto (circa 3 gg prima), ha comportato una riduzione del CCS nel latte (-53%) accompagnata da un importante decremento della percentuale di leucociti PMN (-43%) (Morgante et al., 1995). Gli stessi autori in un successivo lavoro (Morgante et al., 1999), con due somministrazioni sottocute (ad intervalli di 2 settimane) di Vit. E (5 mg/kg peso corporeo) e di Selenio (0,1 mg/kg peso corporeo sotto forma di Na_2SeO_3) a pecore durante il periodo di asciutta (30 gg pre-parto) hanno osservato una significativa riduzione del CCS nel latte e della percentuale di leucociti PMN nei primi 90 giorni della lattazione successiva, rispetto al gruppo di controllo. Questi risultati sono stati confermati in altre simili prove condotte su pecore da latte. Pauselli et al. (2001) hanno osservato che pecore da latte di razza Comisana, alimentate con diete integrate sia con vitamina E e Se (400 UI/capo/d e 0,3 mg/capo/d, rispettivamente) a partire da due settimane prima del parto fino a 60 giorni di allattamento, hanno prodotto latte con minore SCC di quelle che ricevono soltanto l'integrazione con vitamina E (400 UI/capo/d). Questo risultato è in linea con gli studi precedenti degli stessi autori (Pauselli et al., 1997) che hanno valutato gli effetti della somministrazione di vitamina E (5 mg / kg di PV) e Se (0,1 mg / kg di PV) mediante iniezione sottocutanea ogni due settimane per pecore da latte. L'effetto positivo sul SCC è probabilmente dovuto alla sinergia fra la vitamina E e il Se della dieta: infatti, la Vit. E inibisce la perossidazione degli acidi grassi polinsaturi (PUFA) sequestrando radicali liberi, mentre il Se, come componente di GPSx, riduce la formazione degli idroperossidi.

Poichè il Se è un componente della GPSx, quest'ultima rappresenta un indicatore della carenza di Se nella dieta. Uno studio condotto su pecore di razza Sarda che pascolavano su erbe carenti in selenio, ha evidenziato una riduzione dei livelli eritrocitari del GSH-Px e la relazione negativa tra i livelli eritrocitari di GSH-Px e il CCS del latte (Ronchi et al., 1996). Queste relazioni sono molto importanti soprattutto se si considera che in Italia ci sono diverse zone carenti in Se, insufficienza ampiamente evidenziata dall'elevata incidenza della malattia del muscolo bianco negli agnelli (Sfacteria et al., 2009). L'integrazione con Se è particolarmente utile anche quando le pecore sono alimentate prevalentemente con fieni o insilati che possono aver subito notevoli perdite di beta-carotene e vitamina E durante la conservazione.

Tuttavia, l'integrazione con Se finalizzata a contrastare le mastiti e, di conseguenza, gli alti CCS nel latte non ha dato risultati univoci probabilmente perché questa ha efficacia in animali in stato di carenza, mentre in animali con adeguato apporto del mi-

croelemento nella dieta, un aumento di integrazione con Se risulta inefficace (Meyer et al., 2011).

Anche l'integrazione con Zn si è dimostrata efficace nel migliorare le difese immunitarie della ghiandola mammaria. La somministrazione di Zn-Meth (1 g/d) a capre di razza Murciano-granadina da 3 a 20 settimane di lattazione, ha comportato una riduzione numerica del CCS per tutta la durata della lattazione, sebbene non abbia raggiunto i livelli di significatività statistica rispetto al gruppo di controllo. Nel complesso, nel gruppo trattato è stato riscontrato un minore numero di campioni positivi ad esame batteriologico, probabilmente perché lo Zn favorisce la sintesi di cheratina nel canale capezzolare con riduzione dell'incidenza di nuove infezioni intrammarie (Salama et al. 2003).

Risultati efficaci nella riduzione della incidenza delle mastiti subcliniche sono stati ottenuti con la somministrazione di vitamina A. La riduzione del CCS nel latte del gruppo di pecore trattate con una iniezione intramuscolare di vit. A (3.500 IU) ogni 3 mesi è stata riscontrata per tutta la durata di lattazione, sebbene in misura più marcata nei primi stadi (Koutsoumpas et al., 2013). Efficace nella riduzione del CCS nel latte di pecora è risultata anche la somministrazione intramuscolare di beta carotene (200 mg), precursore della vitamina A (Raynal-Ljutovac et al. 2007).

Recentemente si stanno accumulando evidenze sperimentali interessanti sull'effetto positivo dei polifenoli sul CCS del latte. In un esperimento condotto su pecore di razza Sarda al pascolo ricco di leguminose (76% di *Medicago polymorpha* L., 20% di *Lolium multiflorum* L. e 4% di altre essenze) la somministrazione di estratto di tannino di castagno ha comportato una significativa riduzione del CCS rispetto al gruppo di controllo (Pulina et al. 2010). Questo risultato è stato confermato dallo stesso gruppo di studiosi in una successiva sperimentazione sempre su pecore di razza Sarda (Castañares et al. 2011) con la somministrazione di 40 g/d di tannini sia di castagno chedi quebracho. Questo effetto positivo dei tannini sul CCS è stato osservato precedentemente su capre che pascolavano su *Lespedeza cuneata*, essenza foraggera appartenente alla famiglia delle Fabaceae e ricca di tannini condensati (Min et al., 2005). Il fenomeno potrebbe essere spiegato con la traslocazione nella ghiandola mammaria di metaboliti secondari con potenziale azione battericida, come suggerito da uno studio di Min et al. (2008) in cui diversi estratti di tannini hanno mostrato un effetto inibente sulla proliferazione di importanti agenti mastidogeni quali *S. aureus*, *E. coli* e *Klebsiella pneumoniae*. Coerentemente con questi risultati, la somministrazione di estratto di melograno su vacche da latte (Shabtay et al., 2012) e su vitelli in fase di pre-svezzamento (Oliveira et al., 2010) ha evidenziato un miglioramento della funzione dei linfociti.

In conclusione, per contenere il CCS nel latte attraverso l'alimentazione occorre somministrare una razione ben formulata sotto il profilo energetico e proteico ed equilibrata in micronutrienti. Inoltre l'inclusione nella dieta di polifenoli può rappresentare una promettente strategia alimentare per contenere il CCS del latte e pertanto merita di essere approfondita.

Bibliografia

- Castañares, N., A. Mazzette, M. Lovicu, A. Mazza, A. Nudda. (2011), Milk production of Sarda ewes fed chestnut and quebracho tannins. *Ital J Anim Sci*, 10(Suppl 1): 96.
- Ingvarstsen K.L., Moyes K.M. (2013), Nutrition, immune function and health of dairy cattle. *Animal* 7 (Suppl 1):112–122.
- Kehrli M.E., Shuster D.E. (1994), Factors affecting milk somatic cells and their role in health of the bovine mammary gland. *J Dairy Sci*,77: 619–627.
- Kehrli M.E., Neill J.D., Burvenich C., Goff J.P., Lippolis J.D., Reinharadt T.A. 2006. Energy and protein effects on the immune system. In: Sejrsen K., Hvelplund T., Nielsen M.O. (Eds.), *Ruminant Physiology*, 455–471, Wageningen Academic Publishers, Utrecht, The Netherlands.
- Koutsoumpas A.T., Giadinis N.D., Petridou E.J., Konstantinou E., Brozos C., Lafi S.Q., Fthenakis G.C., Karatzias H. (2013), Consequences of reduced vitamin A administration on mammary health of dairy ewes. *Small Rum Res*, 110: 120-123.
- Leslie K., Duffield T.F., Schukken Y.H., LeBlanc S.J. (2000) The influence of negative energy balance on udder health. *National Mastitis Council, Regional Meeting Proceedings*, 25-33.
- Grinberg N., Elazar S., Rosenshine I., Shpigel N.Y. (2008), -Hydroxybutyrate abrogates formation of bovine neutrophil extracellular traps and bactericidal activity against mammary pathogenic *Escherichia coli*. *Infect Immun*, 76(6): 2802–2807
- Meyer A.M., Reed J.J., Neville T.L., Thorson J.F., Maddock-Carlin K.R., Taylor J.B., Reynolds L.P., Redmer D.A., Luther J.S., Hammer C.J., Vonnahme K.A., Caton J.S. (2011), Nutritional plane and selenium supply during gestation affect yield and nutrient composition of colostrum and milk in primiparous ewes. *J Anim Sci*,89(5):1627-1639
- Min B.R., Hart S.P., Miller D., Tomita G.M., Loetz E., Sahlu T. (2005), The effect of grazing forage containing condensed tannins on gastro-intestinal parasite infection and milk composition in Angora does. *Vet Parasitol*,130(1-2):105-113.
- Min B., Pinchak W., Merkel R., Walker S., Tomita G. Anderson R.C. (2008), Comparative antimicrobial activity of tannin extracts from perennial plants on mastitis pathogens. *Sci. Res. and Essays*,3(2):66-73.
- Morgante M., Beghelli D., Pauselli M., Dall'Ara P., Capucella M., Ranucci S., (1999). Effect of administration of vitamin E and selenium during the dry period on mammary health and milk cell counts in dairy ewes. *J Dairy Sci*, 82: 623-631.
- Morgante M., Beghelli D., Ranucci S., Pauselli M., Casoli C., Duranti E. (1995), Effects of selenium and vitamin E administration on ewe mammary health: preliminary results. In: *Proc. 30th Int. Symp. SIPZOO*, 419-420, Milano Italy.
- Oliveira R.A., Narciso C.D., Bisinotto R.S., Perdomo M.C., Ballou M.A., Dreher M., Santos J.E.P. (2010), Effects of feeding polyphenols from pomegranate extract on health, growth, nutrient digestion, and immunocompetence of calves. *J Dairy Sci*,93: 4280–4291.
- Pauselli M., Bolla A., Casoli C., Duranti E. (2001). Effect of vitamin E and selenium administration on sheep milk quality. In: *Proc. 14th Natl. Congr. ASPA*, 505-507, Firenze, Italy.
- Pauselli M., Duranti E., Casoli C., Buttazzo C. (1997). Effetto della somministrazione di Se e vit. E sulle caratteristiche qualitative del latte di pecora. In: *Proc. 14th Natl. Congr. ASPA*, 261-262, Pisa, Italy.
- Pulina G., Battacone G., Mazzette A., Acciaro M., Decandia M., Sitzia M., Nudda A. (2010), The effects of hydrolyzable tannins on rumen fluid traits and production performances in dairy sheep fed on pasture. *Proc. 3rd Int. Symp. on Energy and protein metabolism and nutrition*, 339-340, Parma, Italy.
- Raynal-Ljutovac K., Pirisi A., de Crémoux R., Gonzalo C., (2007), Somatic cells of goat and sheep milk: Analytical, sanitary, productive and technological aspects. *Small Rum Res*, 68(1–2): 126-144.
- Ronchi B., Lacetera N.G., Bernabucci U., Nardone A., (1996), Preliminary report on the relationship between selenium status and milk mastitis of dairy small ruminants somatic cell count in selenium de-

- ficient Sardinian ewes. In: Rubino R. (Ed.), Proceedings of somatic cells and milk of small ruminants - International Symposium, 137–171, Bella, Italy.
- Salama A.A., Caja G., Albanell E., Such X., Casals R., Plaixats J. (2003), Effects of dietary supplements of zinc-methionine on milk production, udder health and zinc metabolism in dairy goats. *J Dairy Res*, 70(1):9-17.
- Sfacteria A., Lanteri G., Agricola S., Ferraro S., Macrì B., Mazzullo G. (2009), Miodistrofia enzoitica degli agnelli: indagini clinico-patologiche in un allevamento siciliano. *L'Anim Rev*, 15: 211-214.
- Shabtay A., Nikbachat N., Zenou A., Yosef E., Arkin O., Sneer O., Shwimmer A., Yaari A., Budman E., Agmon G., Miro J. (2012), Effects of adding a concentrated pomegranate extract to the ration of lactating cows on performance and udder health parameters. *Anim Feed Sci and Tech*, 175(1–2): 24-32.
- Smith K.L., Hogan J.S., Weiss W.P. (1997), Dietary vitamin E and selenium affect mastitis and milk quality. *J Anim Sci*, 75:1659-1665.
- Sordillo L.M., Shafer-Weaver K., DeRosa D. (1997), Immunobiology of the mammary gland. *J Dairy Sci* 80:1851-1865.
- Spears J.W., Weiss W.P. (2008), Role of antioxidants and trace elements in health and immunity of transition dairy cows. *The Vet Journal*, 176:70–76
- Suriyasathaporn W., Schukken Y.H., Nielsen M., Brand A. (2000), Low somatic cell count: a risk factor for subsequent clinical mastitis in a dairy herd. *J Dairy Sci*, 83(6):1248-1255.
- Weiss W.P., Hogan J.S., Todhunter D.A., Smith K. L. (1997), Effect of vitamin E supplementation in diets with a low concentration of selenium on mammary gland health of dairy cows. *J Dairy Sci*, 80:1728-1737.
- Weiss W.P., Spears J.W. (2006), Vitamin and trace mineral effects on immune function of ruminants. In: *Ruminant Physiology*, Sejrsen, K., Hvelplund T., Nielsen M.O. (Eds.), 473–496, Wageningen Academic Publishers, Utrecht, The Netherlands.

Relazione tra produzioni latte e cellule somatiche

S. Salaris, A. Carta

Settore Genetica e Biotecnologie, DIRPA-AGRIS Sardegna, 07100 - Sassari, Italia

Introduzione

La relazione tra mastiti e produzioni latte è stata ampiamente dimostrata negli ovini. Infatti, è ben noto che le mastiti inducono un incremento del contenuto in cellule somatiche (Pengov, 2001; Ariznabarreta et al., 2002), determinano un deterioramento del tessuto mammario (Burriel, 1997) e una riduzione della produzione (De Olives et al., 2013), della qualità del latte (Gonzalo et al., 2002; Leitner et al., 2003) e della resa casearia (Raynal-Ljutovac, 2007; Leitner, 2008).

Viceversa appare poco chiara la relazione tra le produzioni latte e le cellule somatiche. Questa relazione è stata spesso dedotta in maniera indiretta combinando fra loro gli effetti attribuiti alle mastiti: l'incremento delle cellule somatiche e la riduzione della produzione di latte.

Per spiegare tale relazione, a volte vengono citati impropriamente i risultati di studi sui parametri genetici dei caratteri produttivi negli ovini (El-Saied et al., 1999; Othmane et al., 2002). Tuttavia, le correlazioni fenotipiche o genetiche ottenute in questi studi non rappresentano una relazione diretta tra le produzioni latte e le cellule somatiche, bensì indicano l'entità della risposta correlata che si avrebbe su un carattere in seguito all'azione di selezione su l'altro.

Pochi studi mettono direttamente in relazione le produzioni latte e le cellule somatiche senza l'intermediazione della presenza di infezione mammaria. Il parame-

Phenotypic correlations between SCS and milk yield in Manchega sheep by test-day ordinal number (1st to 4th).

Test-day	SCS-1	SCS-2	SCS-3	SCS-4	SCS-L ²
Milk-1	-0.09***	-0.07***	-0.10***	-0.09***	-0.04***
Milk-2		-0.09***	-0.11***	-0.11***	-0.08***
Milk-3			-0.11***	-0.11***	-0.13***
Milk-4				-0.13***	-0.15***
Milk-L ²	-0.11***	-0.08***	-0.05***	-0.04***	-0.09***

SCS1-4: SCS in 1st to 4th test-day records; Milk1-4: milk yield in 1st to 4th test-day records.
² Lactational value.
*** $P < 0.001$.

Figura 1. Estratta da Arias et al., 2012. Correlazioni fenotipiche tra SCS e produzione di latte in ovini di razza Manchega per numero ordinale del test day (a valore per lattazione; SCS: score del contenuto in cellule somatiche del latte)

tro che viene impiegato per quantificare tale relazione è la correlazione grezza tra le variabili. Arias et al. (2012) hanno trovato nella razza Manchega correlazioni che vanno da un minimo di -0,07 ad un massimo di -0,13 fra lo score del contenuto in cellule somatiche e la produzione di latte al singolo controllo e di -0,09 fra gli stessi caratteri calcolati per l'intera lattazione (Figura 1).

Table 2 - Correlation coefficients (cases) between SCC, LS, milk yield, chemical samples

	SCC	LS	Milk yield	Fat	Protein	Lactose
SCC	1	0,72 *** (1116)	-0,10 *** (1107)	0,03 (1087)	0,06 (1087)	-0,36 *** (1080)
LS		1	-0,07 * (1107)	0,11 *** (1087)	0,07 ** (1087)	-0,15 *** (1080)
Milk yield			1	-0,38 *** (1082)	-0,43 *** (1082)	0,17 *** (1075)
Fat				1	0,38 *** (1087)	0,02 (1080)
Protein					1	-0,18 *** (1080)
Lactose						1

Figura 2. Estratta da Ubertalle et al., 1996. Coefficienti di correlazione tra SCC, LS, produzione di latte, composizione chimica, parametri reologici di campioni di latte individuali (SCC: contenuto in cellule somatiche; LS: Score lineare di SCC)

Ubertalle et al. (1996) trovano nella razza Delle Langhe una correlazione fra lo score lineare del contenuto in cellule somatiche rispettivamente di -0,07 con la produzione di latte, di 0,11 con il tenore in grasso e di 0,07 con il tenore in proteina (Figura 2).

Infine Gonzalo et al. (1994) riportano che la correlazione in razza Churra fra la produzione di latte e lo score del contenuto in cellule somatiche al singolo controllo è stata di -0,14.

La conclusione che scaturisce da questi studi è che nonostante la relazione tra la produzione di latte e le cellule somatiche sia sempre negativa, indicando che al crescere di una variabile diminuisce l'altra e viceversa (se aumentano le cellule diminuisce il latte), occorre sottolineare l'entità della relazione che a livello scientifico è considerata poco significativa. Va inoltre evidenziato che la relazione fra le cellule somatiche e i tenori presenta la stessa entità ma di segno opposto, cioè al crescere di una variabile cresce anche l'altra (se aumentano le cellule aumentano anche i tenori).

1) Table 2. Least square means of milk yield, milk composition and whey protein fraction in milk of animals classified according to the SCC

		SCC classes		
		<500,000	500,000-1,000,000	>1,000,000
Milk	g/d	1114 ^a	1104 ^a	1015 ^a
Fat	g/l	66.15	67.07	68.04
Lactose	"	45.33 ^a	44.42 ^a	42.35 ^a
Total protein (TP)	"	53.57 ^a	53.17 ^a	55.05 ^a

2) Table 1. Composition of pasteurized milks used for the manufacture of the hard ewes' milk cheese (means from duplicate samples).

	SCC/ml		
	<100,000 Group I	100,000-1,000,000 Group II	>1,000,000 Group III
Total Solids, %	16.69	16.84	14.38
Milk fat, %	5.49	5.67	4.86
Total protein ¹ , %	5.23	5.31	5.02
True protein ² , %	4.90	4.98	4.69
Casein ³ , %	3.60	3.67	3.50

3) Table 1 - Compositions of bulk ovine milk with different SCC (means±SD)

		SCC < 500	500 < SCC < 1000	1000 < SCC < 2000
		x 1000/ml		
SSC	x 1000/ml	229 ± 55	653 ± 250	1200 ± 214
pH		6.52 ± 0.09 ^B	6.62 ± 0.09 ^{AB}	6.68 ± 0.10 ^A
Dry matter	g/100g	17.03 ± 0.99	17.15 ± 0.91	16.89 ± 0.90
Lactose	g/100g	4.74 ± 0.20 ^A	4.54 ± 0.23 ^B	4.38 ± 0.17 ^B
Fat	g/100 ml	6.61 ± 0.73	6.34 ± 0.76	6.36 ± 1.00
True protein	g/100g	5.25 ± 0.35	5.45 ± 0.29	5.51 ± 0.28

4) Table 1. Least square means ± standard error of the considered parameters as affected by the udder health

Item	Udder health status		
	Healthy	Doubtful	Infected
No. of observations	24	18	18
Chemical analysis			
pH	6.55 ^a ± 0.020	6.53 ^a ± 0.025	6.63 ^b ± 0.021
Acidity, °SH	10.28 ± 0.208	9.51 ± 0.228	9.24 ± 0.211
Lactose, %	4.65 ^{ab} ± 0.056	4.80 ^b ± 0.065	4.51 ^a ± 0.059
Fat, %	7.06 ^b ± 0.225	6.32 ^{ab} ± 0.264	6.16 ^a ± 0.240
Calcium, %	0.219 ^a ± 0.004	0.238 ^{ab} ± 0.005	0.239 ^b ± 0.005
Phosphorus, %	0.127 ± 0.008	0.139 ± 0.010	0.143 ± 0.008
Chloride, %	0.187 ± 0.011	0.187 ± 0.014	0.197 ± 0.011
Crude protein, %	5.47 ^a ± 0.106	6.00 ^b ± 0.132	5.95 ^b ± 0.109

Figura 3. Estratta da: 1) Nudda et al., 2003. Medie stimate della produzione di latte, composizione e della frazione della proteina serica nel latte in animali classificati secondo SCC (SCC: contenuto in cellule somatiche); 2) Jaeggi et al., 2003. Composizione del latte pastorizzato utilizzato per la produzione di formaggio ovino stagionato (media da campioni duplicati); 3) Pirisi et al., 2000. Composizione del latte ovino di massa con differenti SCC; 4) Bianchi et al., 2004. Medie stimate ± errore standard dei parametri considerati in funzione dello stato sanitario della mammella e della fase fisiologica.

Un altro approccio utilizzato per mettere in relazione le produzioni lattee e le cellule somatiche è il confronto fra produzioni di animali ripartiti in classi differenti (Figura 3). Le classi sono state identificate in funzione del contenuto in cellule somatiche del latte e ne sono state distinte solitamente tre: una con basso contenuto (meno di 500.000 CS/ml), una a medio contenuto (tra 500.000 e 1.000.000 CS/ml) e una ad elevato contenuto (oltre 1.000.000 CS/ml). I risultati di questi studi non sono sempre concordanti. Ad esempio, Nudda et al. (2003) riportano nella razza Sarda una maggiore produzione di latte (+99 g/d, pari al 9% della produzione) e un minore tenore proteico (-1,5 g/l, pari al 3% del tenore) fra la classe con il minor contenuto in cellule e quella con il maggiore (Figura 3.1). Jaeggi et al. (2003) trovano invece valori produttivi superiori per la classe intermedia nella razza East Friesian (Figura 3.2). Pirisi et al. (2000), riportano nella razza Sarda valori significativamente inferiori di pH e superiori di lattosio fra la classe con minor contenuto e quella con il maggiore (Figura 3.3). Infine Bianchi et al. (2004), sempre nella razza Sarda, evidenziano un maggiore tenore in grasso e un minore tenore in proteina fra la classe con minor contenuto e quella con il maggiore (Figura 3.4). In quest'ultimo studio il contenuto in cellule somatiche è stato utilizzato per definire lo stato sanitario delle mammelle.

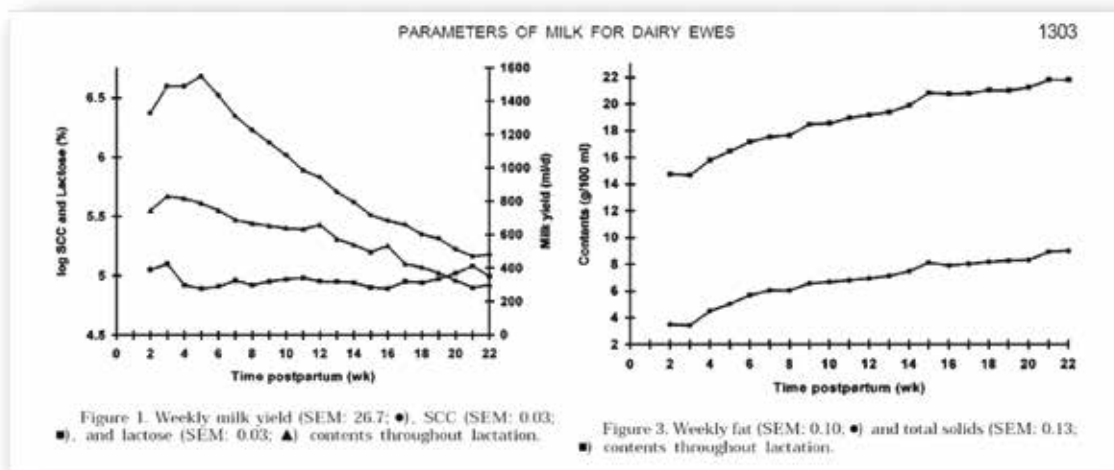


Figura 4. Estratta da Fuentes et al. (1998). Registrazione settimanale della produzione di latte, SCC, tenore in lattosio (a sinistra) e tenore in grasso e solidi totali (a destra) nel corso della lattazione.

L'ultimo approccio impiegato per descrivere la relazione tra cellule somatiche e produzioni lattee è illustrato nel lavoro di Fuentes et al. (1998). Gli autori analizzano l'andamento della quantità e della composizione del latte durante tutta la lattazione con frequenza settimanale. Dal grafico riportato nella figura 4 si può osservare come con il progredire della lattazione si assiste ad una riduzione della produzione di latte e ad una

contemporanea concentrazione dello stesso evidenziata dall'andamento crescente delle curve riferite ai solidi totali, al tenore in grasso e al contenuto in cellule somatiche. Questo aumento di concentrazione è in accordo con i valori di correlazione negativa trovati negli studi citati precedentemente, ed infatti gli autori rilevano differenze significative tra il contenuto in cellule somatiche fra la 5° settimana e la fine della lattazione, ma attribuiscono tali differenze esclusivamente ad un effetto di concentrazione cellulare (detto anche effetto di diluizione) dovuto alla fisiologica riduzione della produzione di latte. L'effetto di diluizione è stato studiato nei bovini da latte da Green et al. (2006) che già nel titolo del lavoro s'interrogano sulla distinzione tra la causa e la conseguenza, ossia se sia l'elevato contenuto in cellule somatiche a determinare una inferiore produzione di latte o se sia l'elevata produzione di latte a determinare un contenuto di cellule somatiche inferiore. Alla fine della loro analisi concludono che ignorare l'effetto di diluizione può portare ad una sovrastima delle perdite di latte attribuibili all'incremento delle cellule somatiche. Recentemente Boland et al. (2013) hanno ripreso gli studi di Green et al. (2006) non trovando conclusioni analoghe ma affermando comunque che l'effetto di diluizione necessita di ulteriori approfondimenti.

Sulla base di tali considerazioni è stata studiata la relazione fenotipica fra il contenuto in cellule somatiche e i caratteri produttivi in ovini da latte tenendo conto dell'effetto di diluizione al fine di dimostrare agli allevatori l'effetto potenziale della riduzione delle cellule somatiche sui caratteri produttivi e determinare il corretto peso economico delle cellule somatiche sul prezzo del latte.

Materiali e metodi - Dal 2000 al 2011 sono stati registrati 116.777 controlli giornalieri della produzione di latte (TD) di 13.998 lattazioni di 5.788 pecore allevate in due allevamenti. Nel primo (FH) sono stati effettuati controlli mensili alle due mungiture e le pecore sono state riformate principalmente per difetti della morfologia mammaria. Nel secondo allevamento (FL) sono stati effettuati controlli quindicinali alle due mungiture e le pecore sono state macellate contemporaneamente dopo la 4° lattazione. I tenori giornalieri in grasso (TG), proteina (TP) e cellule somatiche (CCS) sono stati calcolati ponderando per le produzioni delle rispettive mungiture. Lo score del contenuto in cellule somatiche (SCS) è stato calcolato seguendo Ali e Shook (1980).

Le lattazioni e i rispettivi TD sono stati considerati prodotti da pecore con maggiore probabilità di essere "infette" e sono stati inclusi nella classe di stato sanitario (HSC) 1 quando nel corso della lattazione sono stati registrati almeno due valori di CCS oltre le 600K (K= x10³ cellule/ml) o uno oltre le 1.500K. Tutti gli altri sono stati considerati lattazioni e TD di pecore con una mammella definita "sana" e inclusi in HSC 0.

Al fine di tener conto dell'effetto di diluizione per ogni tenore (grasso, proteina e cellule somatiche) è stato calcolato il valore atteso ad ogni TD successivo al primo come rapporto tra le quantità al primo TD e la quantità di latte al TD considerato (Figura 5). In pratica la quantità al primo TD, ottenuta come il prodotto fra la produzione e il tenore, è stata considerata come livello di base per il calcolo del tenore atteso. In questo modo, l'andamento dei valori attesi è dovuto solo all'effetto di diluizione determinato dal variare delle produzioni di latte.

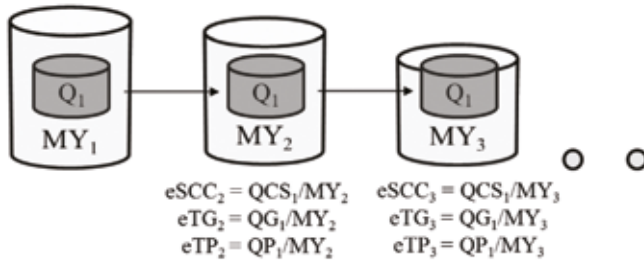


Figura 5. Esempio di calcolo del valore atteso dei tenori ai controlli successivi al primo. (MY: produzione di latte; Q = quantità di grasso o proteina o cellule somatiche)

Successivamente è stata calcolata la deviazione dai valori attesi dei tenori misurati di grasso (DTG), proteina (DTP) e cellule somatiche (DSC). La deviazione misura dunque la variazione del carattere considerato al netto dell'effetto di diluizione (Figura 6.1). La deviazione della produzione di latte (DMY) è stata invece calcolata come

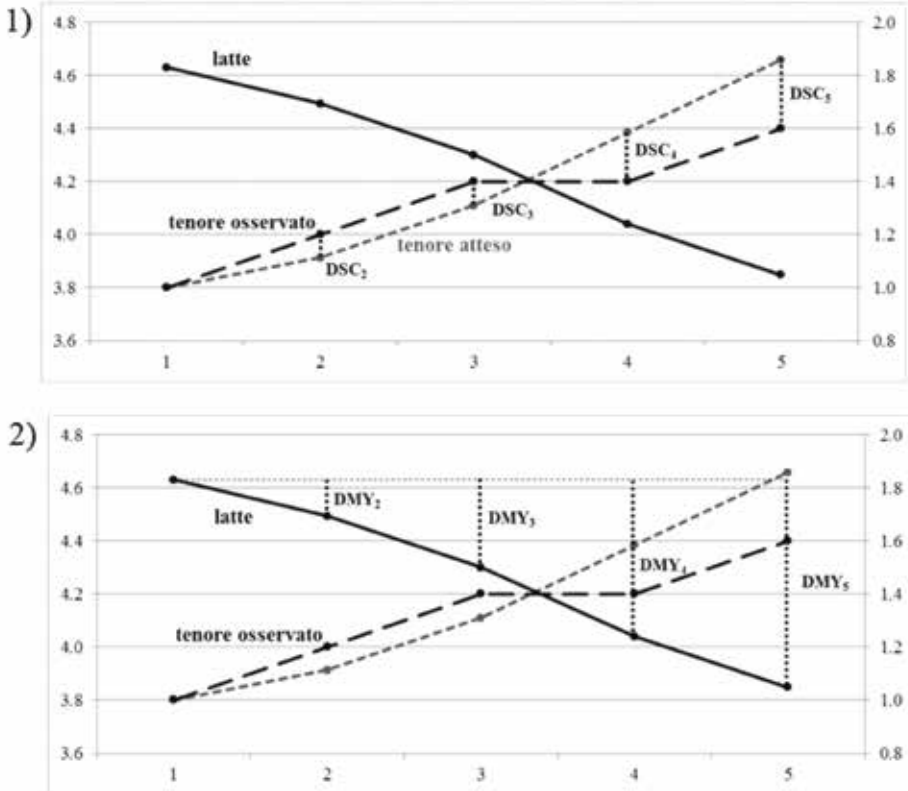


Figura 6. Metodo di calcolo delle deviazioni dal valore atteso dei tenori (1) e della produzione di latte (2)

differenza tra la produzione di latte giornaliera ai TD successivi al primo e quella al primo TD (Figura 6.2).

La relazione tra le cellule somatiche e i caratteri produttivi è stata pertanto studiata sia attraverso la correlazione tra le variabili tal quali, considerate a livello di TD e di lattazione, che tra le deviazioni dai valori attesi. Per questa analisi sono state escluse le lattazioni con CCS al primo TD superiore alle 600K per evitare distorsioni dovute all'inclusione di pecore con mammella probabilmente "infetta" all'inizio della lattazione.

Risultati e discussioni – Nella tabella 1 si riportano le medie delle variabili considerate. Un'azienda ha mostrato una leggera inferiorità produttiva e valori circa doppi del contenuto in cellule somatiche sia in TD che nell'intera lattazione (1164K e 1200K rispetto a 616K e 577K) evidenziando l'influenza di una gestione differente fra le due aziende.

Per quanto riguarda la relazione tra le cellule somatiche e la produzione di latte, è stata trovata una correlazione tra le variabili tal quali di -0,18 (Tabella 2). Tale valore è leggermente superiore rispetto a quelli riportati nei lavori citati precedentemente. Tuttavia, considerando lo stesso parametro per classe di stato sanitario si può osservare come l'entità della relazione sia minore per la classe di stato sanitario 0. Valori di modesta entità e di segno positivo sono stati trovati invece nella correlazione fra le cellule somatiche e i tenori in grasso e proteina (Tabella 2).

Tabella 1. Medie e deviazione standard per allevamento della produzione di latte (MY), tenore in grasso (TG) e proteina (TP), contenuto in cellule somatiche (SCC) e score di SCC (SCS) a livello di TD o di lattazione.

allevamento	TD		Lattazione	
	FH	FL	FH	FL
N	24.187	92.590	4.646	9.352
MY (litri)	1,41 ± 0,47	1,48 ± 0,55	221 ± 58	257 ± 69
TG (%)	6,18 ± 1,08	6,46 ± 1,11	5,99 ± 0,61	6,27 ± 0,72
TP (%)	5,06 ± 0,61	5,28 ± 0,58	4,97 ± 0,38	5,16 ± 0,37
SCC1 (K)	1.164 ± 2.720	616 ± 1.693	1.127 ± 1.755	577 ± 974
SCS	4,73 ± 2,08	4,16 ± 1,72	5,31 ± 1,82	4,55 ± 1,52
¹ K = 10 ³ cellule x ml ⁻¹				

Considerando invece le relazioni tra le deviazioni dai valori attesi, perciò considerando l'effetto di diluizione, è stata ottenuta una correlazione positiva di 0,14 tra le cellule somatiche e la produzione di latte (Tabella 3). In questo caso i valori sono superiori nella classe di stato sanitario 0. Il risultato più importante è rappresentato dal cambio di segno della relazione rispetto alle variabili tal quali. Questa inversione

di segno indica che al crescere di una variabile cresce anche l'altra. È rimasta invece invariata la relazione fra le cellule somatiche e i tenori in grasso e proteina anche se l'entità della correlazione è stata leggermente più elevata rispetto alle variabili tal quali per il grasso e leggermente più piccola per il tenore in proteina (Tabella 3).

Tabella 2. Correlazioni tra cellule somatiche (SCS) e caratteri produttivi (produzione di latte (MY), tenore in grasso (TG) e proteina (TP))

	SCS		
	totale	0	1
MY	-0.18	-0.14	-0.21
TG	0.11	0.13	0.15
TP	0.28	0.22	0.24

Tabella 3. Correlazioni tra la deviazione di cellule somatiche (DSCS) e la deviazione di caratteri produttivi

	DSCS		
	totale	0	1
DMY	0.14	0.27	0.11
DTG	0.17	0.26	0.18
DTP	0.19	0.29	0.18

Infine la correlazione tra le cellule somatiche calcolate per l'intera lattazione è stata di -0,08 con la produzione di latte, di -0,004 con il tenore in grasso e di 0,24 con il tenore in proteina. Anche a livello di variabili calcolate per l'intera lattazione si conferma la trascurabile relazione tra cellule somatiche e produzioni latte e una moderata relazione positiva con il tenore in proteina.

L'insieme di questi risultati mostra che la relazione negativa tra le cellule somatiche e la produzione di latte è dovuta prevalentemente all'effetto diluizione. Infatti, non solo le correlazioni tra le variazioni di cellule e latte sono trascurabili e se esistono sono comunque positive, ma quelle tra cellule e tenori in grasso e proteina sono sempre positive potendosi affermare paradossalmente che un aumento del contenuto in cellule non produce alcun effetto deprimente sulle produzioni quantitative ma addirittura determina un incremento della qualità casearia.

In conclusione appare dunque evidente che i caratteri produttivi non possono essere impiegati come leva per convincere gli allevatori ad abbassare il livello di cellule somatiche. Nel caso si volesse intraprendere per un particolare interesse una strategia di riduzione del contenuto in cellule somatiche nel latte, occorrerebbe dare un peso economico elevato alle cellule somatiche per incentivare gli allevatori.

Bibliografia

1. Ali, A. K. A., and G. E. Shook. 1980. An optimum transformation for somatic cell concentration in milk. *J. Dairy Sci.* 63:487-490.
2. Arias, R., B. Oliete, M. Ramón, C. Arias, R. Gallego, V. Montoro, C. Gonzalo, M.D. Pérez-Guzmán. 2012. Long-term study of environmental effects on test-day somatic cell count and milk yield in Manchega sheep. *Small Rumin. Res.* 106, 2/3, 92-97.

3. Ariznabarreta, A., C. Gonzalo, and F. San Primitivo. 2002. Microbiological quality and somatic cell count of ewe milk with special reference to staphylococci. *J. Dairy Sci.* 85, 1370–1375.
4. Bianchi, L., A. Bolla, E. Budelli, A. Caroli, C. Casoli, M. Pauselli, E. Duranti. 2004. Effect of udder health status and lactation phase on the characteristics of Sardinian ewe milk. *J. Dairy Sci.* 87, 2401–2408.
5. Boland, F., L. O'Grady, S.J. More. 2013. Investigating a dilution effect between somatic cell count and milk yield and estimating milk production losses in Irish dairy cattle. *J Dairy Sci.* 96:1477-1484.
6. Burriel, A.R. 1997. Dynamics of intra-mammary infection in sheep caused by coagulase-negative staphylococci and its influence on udder tissue and milk composition. *Vet. Rec.* 140, 419–423.
7. De Olives, A.M., J.R. Díaz, M.P. Molina, and C. Peris. 2013. Quantification of milk yield and composition changes as affected by subclinical mastitis during the current lactation in sheep. *J. Dairy Sci.* 96, 1–11.
8. El-Saied, U.M., J.A. Carriedo, L.F. De la Fuente, and F. San Primitivo. 1999. Genetic parameters of lactation cell counts and milk and protein yield in dairy ewes. *J. Dairy Sci.* 82, 639–644.
9. Fuertes J.A., C. Gonzalo, J.A. Carriedo, and F. San Primitivo. 1998. Parameters of test day milk yield and milk components for dairy ewes. *J. Dairy Sci.* 81, 1300-1307.
10. Gonzalo, C., J.A. Carriedo, J.D. Gomez, and F. San Primitivo. 1994. Diurnal variation in the somatic cell count of ewe milk. *J. Dairy Sci.* 77, 1856–1859.
11. Gonzalo, C., A. Ariznabarreta, J.A. Carriedo, and F. San Primitivo. 2002. Mammary pathogens and their relationship to somatic cell count and milk yield losses in dairy ewes. *J. Dairy Sci.* 85:1460–1467.
12. Green, L.E., Y.H. Schukken, and M. J. Green. 2006. On distinguishing cause and consequence: Do high somatic cell counts lead to lower milk yield or does high milk yield lead to lower somatic cell count? *Prev. Vet. Med.* 76:74–89.
13. Jaeggi, J.J., S. Govindasamy-Lucey, Y.M. Berger, M.E. Johnson, B.C. McKusick, D.L. Thomas, and W.L. Wendorff. 2003. Hard ewe's milk cheese manufactured from milk of three different groups of somatic cell counts. *J. Dairy Sci.* 86, 3082–3089.
14. Leitner, G., M. Chaffer, Y. Carasso, E. Ezra, D. Kababea, M. Winkler, A. Glickman, and A. Saran. 2003. Udder infection and milk somatic cell count, NAGase activity and milk composition – fat, proteins and lactose – in Israeli Assaf and Awassi sheep. *Small Rumin. Res.* 49, 157–164.
15. Leitner, G., N. Silanikove, U. Merin. 2008. Estimate of milk and curd yield loss of sheep and goats with intramammary infection and its relation to somatic cell count. *Small Rumin Res.* 74, 221-225.
16. Nudda, A., M. Feligini, G. Battacone, N.P.P. Macciotta, and G. Pulina. 2003. Effects of lactation stage, parity, β -lactoglobulin genotype and milk SCC on whey protein composition in Sarda dairy ewes. *Ital. J. Anim. Sci.* 2, 29–39.
17. Othmane, M.H., J.A. Carriedo, L.F. De la Fuente, F. San Primitivo. 2002. Factors affecting test-day milk composition in dairy ewes, and relationships amongst various milk components. *J. Dairy Res.* 69, 53–62.
18. Pengov, A. 2001. The role of coagulase-negative *Staphylococcus* spp. and associated somatic cell counts in the ovine mammary gland. *J. Dairy Sci.* 84:572–574.
19. Pirisi, A., G. Piredda, M. Corona, M. Pes, S. Pintus, and A. Ledda. 2000. Influence of somatic cell count on ewe's milk composition, cheese yield and cheese quality. In: *Proceedings of Sixth Great Lakes Dairy Sheep Symposium*, Guelph, Canada, pp. 47–59.
20. Raynal-Ljutovac, K., A. Pirisi, R. de Crémoux, and C. Gonzalo. 2007. Somatic cells of goat and sheep milk: analytical, sanitary, productive and technological aspects. *Small Rumin. Res.* 68, 126–144.
21. Ubertalle, A., L.M. Battaglini, R. Fortina, and M. Bianchi. 1996. Effect of some variation factors on somatic cell count in Delle Langhe sheep milk. In: Rubino, R. (Ed.), *Proceedings of the International Symposium on Somatic Cells and Milk of Small Ruminants*. EAAP Publication No. 77, Wageningen Pers, Bella, Italy, September 25–27, 1994, pp.187–192.

Infezioni mammarie e benessere animale

Department of Sciences of Agriculture, Food and Environment (SAFE),

University of Foggia, Via Napoli, 25, 71100 Foggia, Italy

Sevi A., Albenzio M., Caroprese M., Muscio A.

Dipartimento di Scienze Agrarie, degli Alimenti e dell'Ambiente, Università degli Studi di Foggia.

¹Corresponding author. Agostino Sevi
e-mail address: agostino.sevi@unifg.it

Introduzione

Le infezioni della ghiandola mammaria sono tra le principali cause di patologie negli allevamenti degli animali da latte e sicuramente tra le patologie di maggior impatto economico. La mastite è connessa all'attivazione di uno stato infiammatorio del sistema immunitario che in larga misura è conseguente alla penetrazione di microrganismi patogeni, distinti in patogeni contagiosi (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus bovis*) e patogeni ambientali (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus uberis*, *Staphylococcus chromogenes*) e stafilococchi coagulasi negativi (CNS). Le infezioni mammarie possono essere anche il risultato di alterazioni fisiologiche e metaboliche dell'animale in lattazione ed essere quindi strettamente connesse alle tecniche di allevamento e allo stato di benessere degli animali allevati. La mastite può infatti essere definita una patologia infiammatoria di tipo multifattoriale con differenti livelli di gravità in quanto a eziologia, intensità, durata e conseguenze, in dipendenza non solo del patogeno, ma anche di una serie di concomitanti fattori relativi all'animale e all'ambiente di allevamento. È ormai noto che la ghiandola mammaria rappresenta un comparto immunologico non sempre coordinato con l'apparato immunologico sistemico, presentando spesso risposte ampiamente diverse da quelle sistemiche (Piccinni et al., 2005). Poco studiati sono i meccanismi di attivazione delle risposte immunologiche della ghiandola mammaria degli ovini e dei caprini. La riduzione dei livelli di benessere in allevamento, d'altro canto, può essere causa di un aumento del contenuto di cellule somatiche nel latte e lasciar supporre l'attivazione di meccanismi immunologici di difesa in risposta a processi infiammatori (Caroprese et al., 2009). Obiettivo della presente rassegna è l'analisi dei meccanismi immunologici e anatomici di difesa della ghiandola mammaria nei piccoli ruminanti, la valutazione dei possibili fattori responsabili dell'insorgenza di fattori di stress nell'allevamento ovi-caprino e lo

studio dei meccanismi di attivazione delle risposte immunologiche della ghiandola mammaria indotte dalla riduzione del benessere nell'allevamento dei piccoli ruminanti.

Meccanismi immunologici della ghiandola mammaria

La ghiandola mammaria è caratterizzata dalla presenza di una serie di fattori anatomici, cellulari e solubili di difesa. Tra i fattori anatomici di difesa è da annoverare l'orifizio del capezzolo che rappresenta la prima difesa della ghiandola mammaria alla penetrazione dei batteri; in particolare danni intercorrenti alla muscolatura liscia responsabile della chiusura dello sfintere capezzolare possono essere direttamente connessi all'aumento dell'incidenza di mastiti. Anche la presenza di cheratina prodotta dalle cellule del dotto papillare del capezzolo, grazie alla sua blanda azione battericida imputabile alla presenza di acidi grassi esterificati e non esterificati (miristico, palmitoleico e linoleico), funge da meccanismo di difesa di tipo chimico-fisico, e nel contempo forma un "tappo" cheratinico alla penetrazione dei patogeni nella ghiandola. L'attivazione del sistema immunitario della ghiandola mammaria in risposta ad uno stimolo infiammatorio, determina anche variazioni nel numero e nel contenuto delle cellule somatiche del latte (SC), rappresentate in larga parte da linfociti, macrofagi, neutrofilo e cellule epiteliali. I neutrofilo, i macrofagi e i linfociti, in particolare, sono i responsabili dei meccanismi effettori. Il loro numero complessivo e la relativa distribuzione delle popolazioni sono di vitale importanza per la lotta contro i patogeni. I macrofagi, in particolar modo, sono i responsabili del riconoscimento dei patogeni all'interno della ghiandola mammaria e danno inizio alla risposta immunologica provocando il rapido aumento dei neutrofilo e stimolandone l'attività battericida. Questi ultimi, poi, richiamati nel sito di infezione, fagocitano batteri e producono specie reattive dell'ossigeno, peptidi antibatterici a basso peso molecolare e defensine in grado di distruggere molti dei batteri responsabili delle mastiti (Sordillo e Streicher, 2002; Mehrzad et al., 2002; Paape et al., 2003). I meccanismi effettori di difesa della ghiandola mammaria prendono l'avvio dal riconoscimento dei microrganismi ad opera dei macrofagi e la conseguente produzione di citochine pro-infiammatorie come la IL-1 β ed il TNF- α , responsabili sia della stimolazione dell'attività battericida dei neutrofilo che della secrezione di prostaglandine e leucotrieni sostenitori delle reazioni infiammatorie (Stein et al., 2003). Anche le cellule epiteliali della ghiandola mammaria rivestono un ruolo importante nello sviluppo della risposta immunologica all'interno della ghiandola: l'adesione dei batteri alle cellule epiteliali e la loro interazione con le tossine batteriche stimola la secrezione di TNF- α , IL-6 e IL-8 (Rainard e Riollet, 2003). L'attivazione dei processi infiammatori all'interno della ghiandola mammaria, oltre ad essere imputabile alla secrezione delle succitate citochine, è connessa anche alla produzione di IL-2, IL-12 ed IFN- γ , responsabili dell'attivazione e regolazione delle risposte immunologiche acquisite. Le cellule costituenti il tessuto secernente sono unite le une alle altre per mezzo di una serie di giunture di natura

proteica tra cui le giunzioni serrate (tight junctions = TJ), poste nella parte apicale della cellula, con funzione di barriera fra fluido interstiziale, in equilibrio osmotico con il siero del sangue, e il latte contenuto nell'alveolo. Le giunzioni serrate della ghiandola mammaria sono strutture dinamiche e possono essere controllate da una serie di stimoli. Sia fattori locali, riferibili all'aumento della pressione intramammaria a seguito della stasi del latte o a fenomeni infiammatori, che sistemici, relativi alla secrezione di fattori ormonali, quali progesterone, prolattina e glucocorticoidi possono alterare il funzionamento e la permeabilità delle giunzioni serrate (Nguyen e Neville, 1998).

Fattori responsabili dell'insorgenza di stress negli ovini e nei caprini

Numerose sono le definizioni proposte del concetto di stress o viceversa del benessere applicato ai piccoli ruminanti, e tutte convergono sul fatto che il "benessere" è un concetto dinamico che deve essere riferito alle diverse specie ed alla loro evoluzione filogenetica di specie ed ontogenetica individuale, in relazione alle condizioni di sviluppo ed all'ambiente di vita. Definire il "benessere" significa quindi definire la situazione di "non stress", o meglio di "non distress", intendendo per distress uno stato in cui l'animale non è in grado di adattarsi all'ambiente od alla modificazione degli stimoli interni. Per stress si deve intendere una reazione fisiologica in risposta a pressioni ambientali o psicologiche, indicate come stressori, collegata ad una serie di modificazioni dell'organismo, quali innalzamento dei livelli di corticosteroidi, immunodepressione e cambiamenti comportamentali (Moberg, 1985, 2000). Esiste infatti una stretta connessione tra disagio grave, disturbo dell'omeostasi psico-fisica e possibile somatizzazione, con manifestazioni di stati pre-patologici e patologie clinicamente conclamate, come evidenziato da Moberg (2000), che ha proposto un modello di risposta psico-biologica allo stress (Fig. 1). La risposta fisiologica allo stress più frequentemente studiata e monitorata è l'attivazione del sistema ipotalamo-ipofisi-surrene (HPA) che coinvolge la secrezione dell'ormone CRH (ormone per il rilascio della corticotropina) da parte dell'eminenza mediana dell'ipotalamo. Il CRH stimola la secrezione di ormone adenocorticotropo (ACTH) da parte della adenoipofisi che, a sua volta, stimola la secrezione di glucocorticosteroidi dalla corteccia surrenale.

L'alterazione delle funzioni immunitarie va valutata in relazione allo stressore ed al tipo di funzione considerata, in quanto talvolta si può avere incremento di alcune funzioni immunitarie, anziché depressione, in risposta allo stressore (Dubreuil *et al.*, 1993). È ben noto che la secrezione del cortisolo determina fenomeni di linfopenia e neutrofilia (Burton e Beljan, 1970; Gwazdauskas *et al.*, 1980; Blecha *et al.*, 1982). Inoltre, un comprovato effetto del cortisolo è l'inibizione dell'accumulo dei neutrofili nella sede di un trauma o di un'infezione. In particolar modo il cortisolo stimola la liberazione di neutrofili immaturi dal midollo osseo, determinando un aumento totale del loro numero nel torrente ematico, ma di fatto sembra che ne riduca l'attività fagocitaria e battericida, nonché la diapedesi dai vasi sanguigni.

L'effetto di tali azioni è, quindi, la riduzione della capacità di opporre una risposta locale efficace ad agenti irritanti o anche microrganismi, e di circoscrivere l'infezione. In definitiva il cortisolo riduce l'efficacia delle azioni di risposta soprattutto dei neutrofili (Berne e Levy, 1991). I glucocorticoidi agiscono sul sistema immunitario riducendo la produzione e l'attività di numerose citochine, probabilmente inibendo alcuni fattori trascrizionali cellulari o la sintesi dei recettori specifici. Negli ovini in particolar modo, stressori di natura metabolica o ambientale sono responsabili di effetti immunodepressivi a livello sistemico. Nel periodo precedente al parto una più bassa secrezione di anticorpi specifici contro l'emocianina è stata riscontrata nel sangue di pecore sottoposte ad una gravidanza gemellare rispetto a pecore sottoposte a gravidanza singola (Figg. 2 e 3; Caroprese et al., 2006). Anche l'assenza di ricoveri durante il periodo estivo ha esitato in una riduzione della risposta cellulo-mediata alla fitoemoagglutinina (PHA) in pecore in mungitura (Sevi et al., 2001). Non sempre però la risposta immunologica sistemica risulta essere connessa alla risposta immunologica locale della ghiandola mammaria. A riprova di ciò, Sevi et al. (2001) hanno riscontrato livelli più elevati di cellule somatiche nel latte di pecore prive di ricoveri per il riparo dalle alte temperature rispetto a quelli riscontrati in pecore che usufruivano di ricoveri, in concomitanza alla rilevazione di uno stato di immunodepressione sistemica per quanto attiene alla risposta cellulo-mediata (Fig. 4). È pur vero che spesso situazioni responsabili della riduzione del benessere nell'allevamento ovino sono altresì responsabili del peggioramento igienico-sanitario della condizione stabulativa degli ovi-caprini, e quindi di un aumento di possibili fonti di contaminazione batterica della ghiandola mammaria. In tale ottica gli elevati contenuti di cellule somatiche misurate nel latte di pecore private di ricoveri durante il periodo estivo potrebbe essere ricondotto allo scadimento delle caratteristiche igienico sanitarie ed esitate in un maggior contenuto di coliformi totali e fecali, e di stafilococchi nel latte di tali pecore (Sevi et al., 2001). Anche una insufficiente portata di ventilazione d'estate è fonte di riduzione del benessere degli ovini in lattazione: in una precedente sperimentazione una portata di 35 m³/h/pecora si è tradotta, rispetto ad una portata di ventilazione di circa 65 m³/h/pecora, in un aumento significativo dei livelli di cortisolo ematico a seguito della stimolazione esogena con ACTH. Le motivazioni alla base dell'elevato contenuto di cellule somatiche trovato nel latte degli animali in condizioni di scarso benessere, più che da mettere in relazione allo stato immunologico sistemico dell'animale sarebbero da attribuire alla maggiore carica di batteri mesofili del latte, a sua volta risultanti da un peggioramento del microbismo ambientale (Sevi et al., 2003). Lo stesso dicasi per l'aumento della densità in allevamento: una riduzione della superficie disponibile da 2 a 1,5 a 1m²/pecora è risultata responsabile dell'aumento della carica batterica ambientale totale da 18×10³ a 30×10³ cfu/m³ e dei coliformi ambientali da 0,5×10³ a 0,9×10³ cfu/m³, con un effetto diretto sia sull'aumento della carica microbica del latte che del contenuto di cellule somatiche (Sevi et al., 1999). Una riduzione della disponibilità della superficie da 3 a 1,5 m²/pecora è risulta inoltre

responsabile di una riduzione significativa della risposta umorale antigene specifica a livello sistemico, ma in un aumento del contenuto in cellule somatiche del latte (Caroprese et al., 2009). Nondimeno la disponibilità di un paddock esterno, a parità di densità di allevamento, ha determinato un irrobustimento della risposta cellulo-mediata, ma al contempo una riduzione del contenuto in cellule somatiche del latte (Caroprese et al., 2009).

Anche la routine di mungitura rappresenta un punto critico negli allevamenti ovini e caprini da latte. Il peggioramento delle condizioni igieniche degli operatori di stalla, della macchina mungitrice, della sala di mungitura rappresenta un importante fattore di contaminazione della ghiandola mammaria e del latte (Albenzio et al., 2002; Albenzio et al., 2003).

L'esposizione a stressori di natura psicogena e fisica sia prima che dopo la routine di mungitura riduce l'eiezione del latte con concomitante abbassamento delle difese immunitarie e aumento del rischio di patologie a carico della ghiandola mammaria. In particolare il non corretto funzionamento dell'impianto di mungitura, causato da un'adeguata installazione, scarsa manutenzione e uso improprio possono indurre stress negli animali durante la mungitura aumentando il rischio di contrarre patologie a carico della ghiandola mammaria. I principali elementi dell'impianto di mungitura responsabili di tali eventi sono il livello di vuoto, la frequenza di pulsazione e i portacapezzoli. Un vuoto di 36-38 kPa è generalmente raccomandato per operare in buone condizioni: il livello di vuoto dovrebbe essere, infatti, il più basso possibile al fine di garantire un completo svuotamento della ghiandola mammaria in tempi relativamente brevi. La frequenza di pulsazione riveste un ruolo importante nella prevenzione di edema e congestione del capezzolo e nella riduzione dell'incidenza delle infezioni mammarie. La norma UNI ISO 5707:2011 riporta che la fase di mungitura e la fase di massaggio devono durare almeno il 15% ed il 30% del tempo richiesto per ciascun ciclo di pulsazione per le bovine da latte. Per quanto riguarda la corretta frequenza di pulsazioni della macchina mungitrice non esistono ancora linee guida per gli ovi-caprini. Considerato che i piccoli ruminanti presentano una maggiore sensibilità rispetto ai bovini, i valori riportati per i bovini possono essere adottati anche per i piccoli ruminanti. Il portacapezzoli è il componente dell'unità di mungitura che influenza principalmente l'efficienza della mungitura in termini di svuotamento della ghiandola mammaria e di stabilità del vuoto. Anche l'esordio della lattazione comporta una transitoria riduzione della risposta immunitaria cellulare nella pecora munta meccanicamente. Le pecore primipare non addestrate alla mungitura meccanica presentano un transitorio aumento della conta delle cellule somatiche in esordio di lattazione. Le pecore non addestrate manifestano anche un transitorio aumento del livello ematico di cortisolo e di catecolamine.

Da quanto riportato sembrerebbe quindi che tutte le volte in cui, a causa delle condizioni fisiologiche o ambientali, si assiste ad una riduzione del livello di benessere degli ovini, si registra uno stato di immunodepressione sistemica in termini di

risposta umorale e cellulo-mediata; lo stato immunologico della ghiandola mammaria, almeno per quanto attiene alla definizione del contenuto in cellule somatiche, sembra però reagire con ampi margini di indipendenza dalla risposta immunologica sistemica, e spesso in maniera antitetica. Nondimeno è noto che l'effetto dei glucocorticoidi non è unidirezionale, come dimostrato dal fatto che la loro produzione stimola il rilascio del fattore inibitorio della migrazione dei macrofagi (MIF), che è notoriamente proinfiammatorio (Fingerle-Rowson et al., 2003). Se tale modalità di reazione è stata ampiamente discussa nelle osservazioni precedenti, almeno per quanto attiene all'aumento dei livelli di cortisolo ematico a seguito di scarse condizioni di benessere e la sua azione immunodepressiva a livello sistemico, ben più complesso appare il fenomeno se si focalizza sulle risposte immunologiche della ghiandola mammaria. Thompson (1996) ha infatti verificato che in capre a gravidanza avanzata l'iniezione di cortisolo praticata localmente al livello della ghiandola mammaria riduce la concentrazione di sodio ed aumenta la concentrazione di potassio nel secreto della ghiandola mammaria, ipotizzando così la chiusura delle giunzioni serrate ad opera del cortisolo. A supporto di tale ipotesi esistono una serie di evidenze scientifiche riportate nella revisione di Nguyen e Neville (1998). Eppure sia stress di natura fisica quali il trasporto, che di natura psicogena, quali l'isolamento dai conspecifici, sia nei bovini che negli ovini, hanno dimostrato essere connessi ad un aumento della permeabilità delle giunzioni serrate ed al contempo ad un aumento della secrezione di cortisolo (Yagi et al., 2003; Stelwagen et al., 2000; Caroprese et al., 2010). Stelwagen et al. (2000), in particolare, ipotizzano che, posto che spesso la risposta allo stress si configura con una iperattività dell'asse HPA, con conseguente aumento del cortisolo ematico, e considerato che quest'ultimo ha una comprovata azione di riduzione della permeabilità delle giunzioni serrate, altri fattori prodotti durante eventi stressanti possano essere responsabili dell'annullamento o addirittura dell'inversione degli effetti esercitati dal cortisolo sulle giunzioni serrate. In effetti, Caroprese et al. (2010) hanno verificato la presenza di elevati livelli di IL-1b plasmatici e di IL-1b e IL-6 nel latte di pecore caratterizzate da un'elevata reattività del sistema HPA all'isolamento, evidenziando l'associazione tra la secrezione di cortisolo ed uno stato di tipo infiammatorio, connesso all'aumento del contenuto di cellule somatiche nel latte (Figg. 5 e 6). Una possibile ipotesi a spiegazione di tale fenomeno, particolarmente attendibile, va sotto il nome di infiammazione sterile, per la quale si intende l'attivazione di processi di tipo innato ed infiammatori che si verificano in assenza di patogeni (Rock et al., 2010; Fleshner, 2013). Già agli inizi del '900 Hans Selye, che viene considerato il padre del concetto di stress sotto un profilo biologico, suppose che i tessuti siano in grado di rilasciare "segnali di allarme" a seguito di stimoli locali o sistemici, responsabili dell'iniziazione e della prosecuzione della risposta infiammatoria. Tra tali segnali tissutali vengono annoverati l'ATP, l'acido urico, il glucosio, le heat shock proteins, ovvero tutte molecole proprie dell'ospite, normalmente presenti all'interno delle cellule e non riconosciute come non-self dal sistema immunitario. A seguito di un danno

tissutale o di uno stimolo stressogeno tali molecole vengono rilasciate all'esterno delle cellule, divenendo visibili al sistema immunitario ed attivando il comparto delle risposte infiammatorie, attraverso l'attivazione del sistema immunitario innato. L'ipotesi ormai acclarata è che l'esposizione a fonti di stress sia in grado di attivare una risposta immunologica sistemica definita infiammazione sterile. Concludendo, lo stress, a prescindere dalla sua origine, attiva il sistema nervoso centrale e l'HPA che, con la mediazione di una complessa compagine di mediatori chimici e di ormoni, possono produrre due distinti effetti *dose-dependent* sul sistema immunitario: la sindrome immunodepressiva e l'infiammazione sterile. Entrambi gli esiti costringono l'animale a un "dispendioso" recupero dell'omeostasi che mina l'efficienza biologica e/o ne compromette più o meno gravemente lo stato di salute. Soprattutto la sindrome immuno-soppressiva appare insidiosa, specialmente nei casi, non infrequenti, di precarie condizioni igieniche in allevamento. La tutela del benessere in allevamento si conferma in definitiva uno degli strumenti più efficaci per assicurare condizioni di vita e di salute soddisfacenti agli animali e per garantire un reddito soddisfacente all'allevatore.

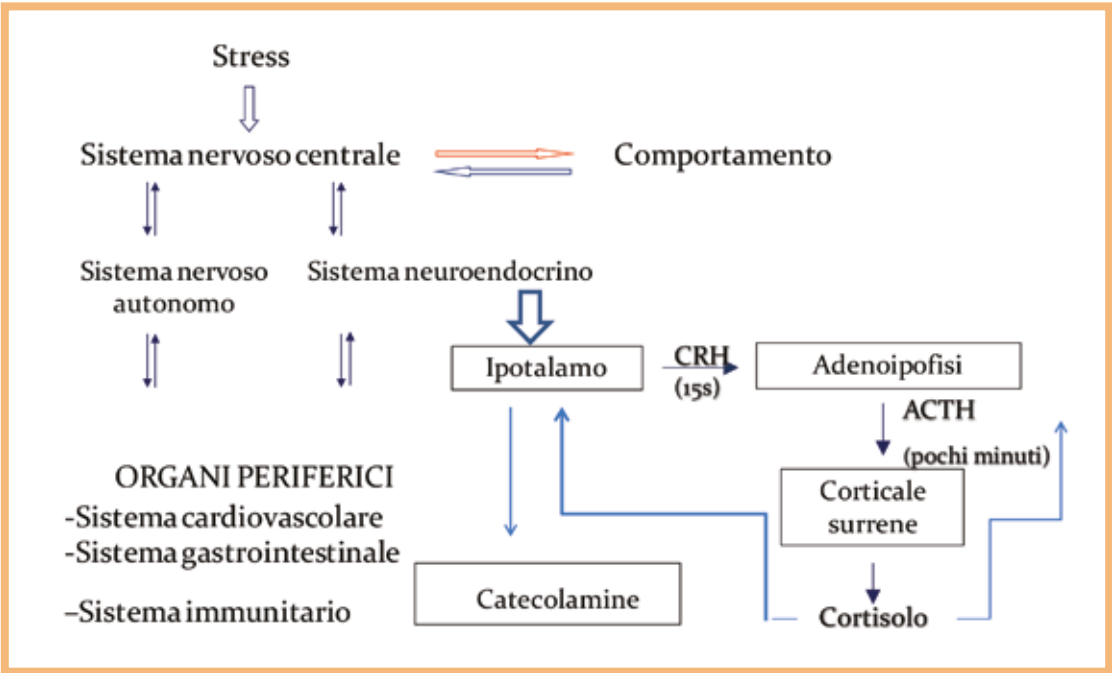


Figura 1. Effetti dello stress sul sistema neuroendocrino ed immunologico e cross-talk tra i due sistemi finalizzato al mantenimento e recupero dell'omeostasi.

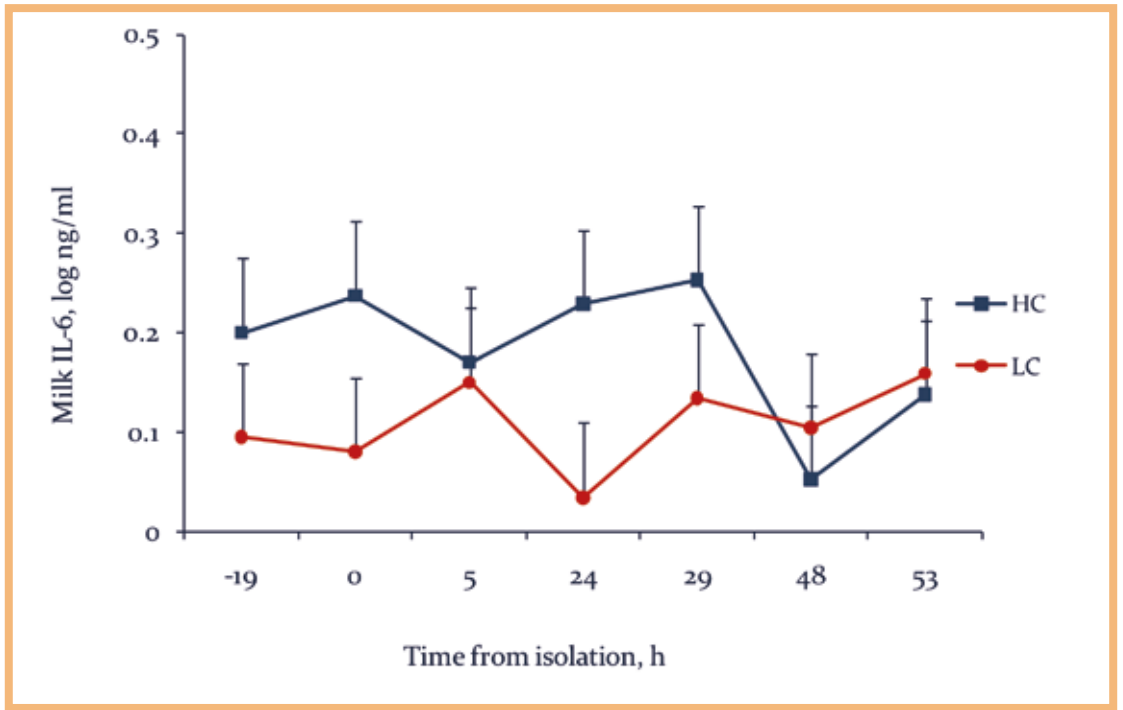


Figura 2. Andamento dell'IL-6 nel plasma e nel latte di pecore con gravidanza gemellare (TL) o singola (SL) durante il parto.

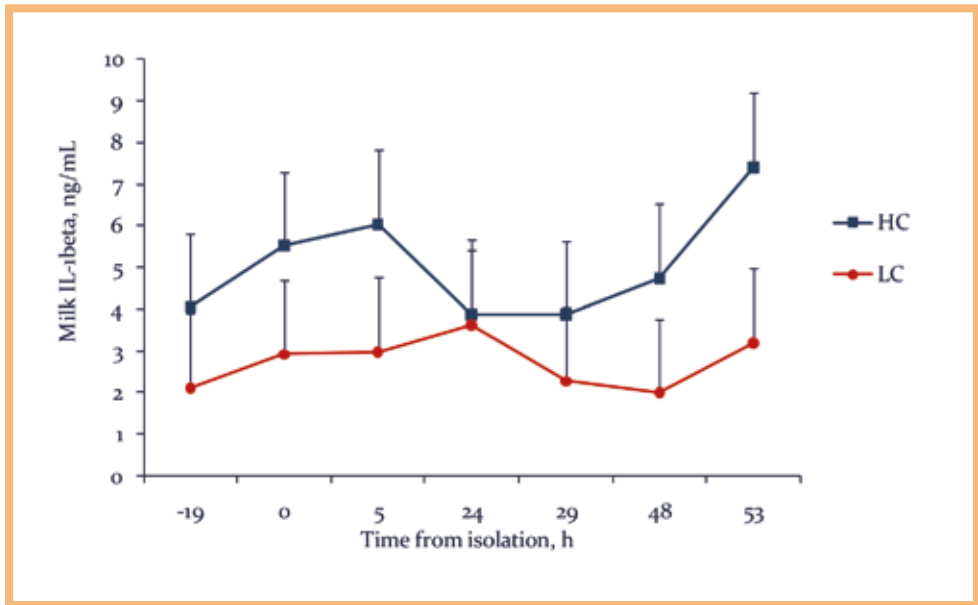


Figura 3. Andamento della secrezione di anticorpi antigene specifici nel plasma e nel latte di pecore con gravidanza gemellare (TL) o singola (SL) durante il parto.

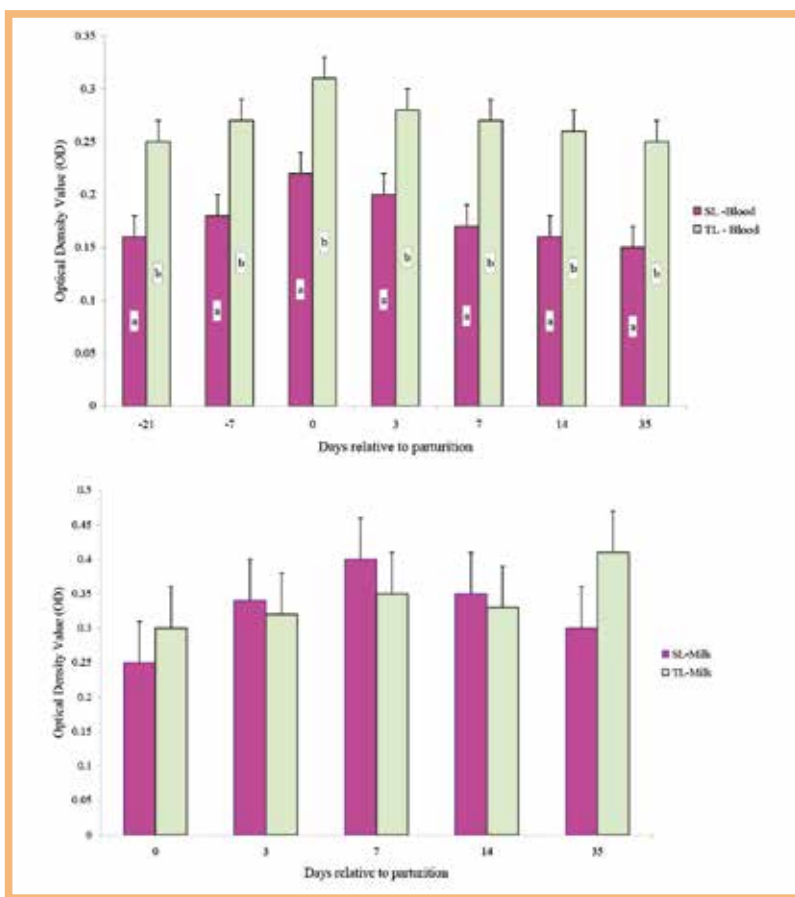


Figura 4. Risposta cellulo-mediata di pecore protette o esposte alla radiazione solare durante il periodo estivo.

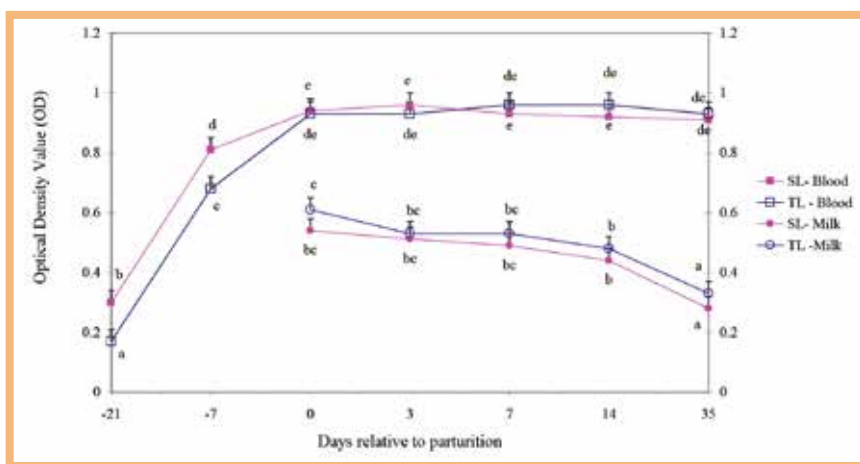


Figura 5. Andamento dell'IL-6 nel latte di pecore sottoposte ad isolamento e ad elevata (HC) o bassa reattività (LC) del sistema HPA.

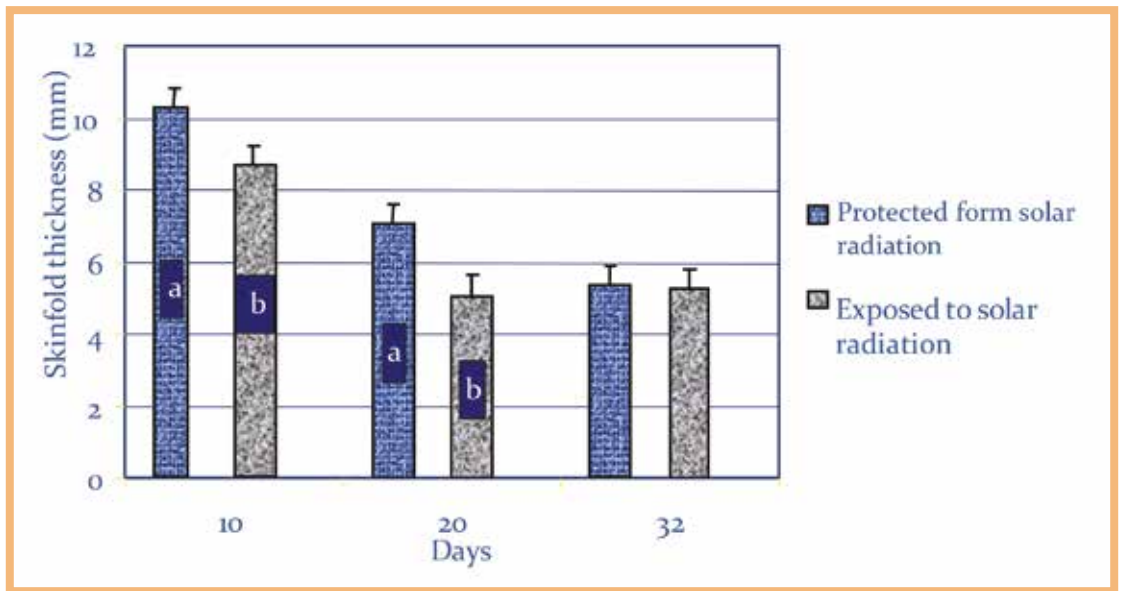


Figura 6. Andamento dell'IL-1 β nel latte di pecore sottoposte ad isolamento e ad elevata (HC) o bassa reattività (LC) del sistema HPA.

Bibliografia

1. Piccinini R., Binda E., Belotti M., Casirani G., Zecconi A. (2005) *Comparison of blood and milk non-specific immune parameters in heifers after calving in relation to udder health*. Veterinary Research, 36 747-757.
2. Caroprese M., Annicchiarico G., Schena L., Muscio A., Migliore R., Sevi A. (2009) *Influence of space allowance and housing conditions on the welfare, immune response and production performance of dairy ewes*. Journal of Dairy Research, 76 66-73.
3. Sordillo L.M., Streicher K.L. (2002) *Mammary gland immunity and mastitis susceptibility*. Journal of Mammary Gland Biology Neoplasia, 7 135-146.
4. Meharzad J., Duchteau L., Pyörälä S., Burvenich C. (2002) *Blood and milk neutrophil chemiluminescence and viability in primiparous and pluriparous dairy cows during late pregnancy, around parturition and early lactating period*. Journal of Dairy Science, 85 3268-3276.
5. Paape M.J., Bannerman D.D., Zhao X., Lee J.W. (2003) *The bovine neutrophil: structure and function in blood and milk*. Veterinary Research, 34 597-627.
6. Stein B.N., Gamble J.R., Pitson S.M., Vadas M.A., Khew-Goodall Y. (2003) *Activation of endothelial extracellular signal-regulated kinase is essential for neutrophil transmigration: potential involvement of a soluble neutrophil*. Journal of Immunology, 171 6097-6104.
7. Albenzio M., Santillo A., Caroprese M., Ruggieri D., Ciliberti M., Sevi A. (2012) *Immune competence of the mammary gland as affected by somatic cell and pathogenic bacteria in ewes with subclinical mastitis*. Journal of Dairy Science, 95 3877-3887.
8. Rainard P., Riollet C. (2003) *Mobilization of neutrophils and defense of the bovine mammary gland*. Reproduction Nutrition Development, 43 436-457.
9. Nguyen D.D., Neville M.C. (1998) *Tight Junction Regulation in the Mammary Gland*. Journal of Mammary Gland Biology Neoplasia, 3 233-246.

10. Moberg J.P. (1985) *Animal Stress*. Am. Physiol. Soc., Bethesda, U.S.A.
11. Moberg J.P. (2000) *Biological response to Stress: Implications for Animal Welfare*. In: Moberg J.P. e Mench J.A., 2000, *The Biology of Animal Stress*. CABI Pub., CAB Int., N.Y., U.S.A.
12. Dubreuil P., Farmer C. Counture Y., Petitclerc D. (1993) *Hematological and biochemical changes following an acute stress in control and somatostatin-immunized pigs*. Canadian Journal of Animal Science, 73 241-252.
13. Burton R.R., Beljan J.R. (1970) *Animal restraint applications in space (weightless) environment*. Aerospace Medicine 41 1060-1065.
14. Gwazdauskas F.C., Paape M.J., Peery D.A., Mcgillard M.L. (1980) *Plasma glucocorticoid and circulating blood leukocyte responses in cattle after sequential intramuscular injections of ACTH*. American Journal Veterinary Research, 41 1052-1056.
15. Blecha F., Barry R.A., Kelley K.W. (1982) *Stress induced alterations in delayed-type hypersensitivity to SRBC and contact sensitivity to DNFB in mice*. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine, 169 239-246.
16. Berne R.M., Levy M.N. (1991) *Fisiologia*. Ed. Ambrosiana- Milano, 1036-1037.
17. Caroprese M., Albenzio M., Annicchiarico G., Sevi A. (2006) *Changes Occurring in Immune Responsiveness of Single- and Twin-Bearing Comisana Ewes During the Transition Period*. Journal of Dairy Science, 89 562-568.
18. Sevi A., Annicchiarico G., Albenzio M., Taibi L., Muscio A., Dell'Aquila S. (2001) *Effects of solar radiation and feeding time on behavior, immune response and production of lactating ewes under high ambient temperature*. Journal of Dairy Science 84 629-640.
19. Sevi A., Taibi L., Albenzio M., Annicchiarico G., Marino R., Caroprese M. (2003) *Influence of ventilation regimen on micro-environment and on ewe welfare and milk yield in summer*. Italian Journal of Animal Science, 2 197-212.
20. Sevi A., Massa S., Annicchiarico G., Dell'Aquila S., Muscio A. (1999) *Effect of stocking density on ewes milk yield, udder health and micro-environment*. Journal of Dairy Research, 66 489-499.
21. Albenzio M., Taibi L., Muscio A., Sevi A. (2002) *Prevalence and etiology of subclinical mastitis in intensively managed flocks and related changes in the yield and quality of ewe milk*. Small Ruminant Research, 43 219-226.
22. Albenzio M., Taibi L., Caroprese M., De Rosa G., Muscio A., Sevi A. (2003). *Immune response, udder health and productive traits of machine milked and suckling ewes*. Small Ruminant Research, 48 189-200.
23. Fingerle-Rowson G., Koch P., Bikoff R., Lin X., Metz C.N., Dhabhar F.S., Meinhardt A., Bucala R. (2003) *Regulation of macrophage migration inhibitory factor expression by glucocorticoids in vivo*. American Journal of Pathology, 162 47-56.
24. Thompson G.E. (1996) *Cortisol and regulation of tight junctions in the mammary gland of the late-pregnant goat*. Journal of Dairy Research, 63 305-308.
25. Yagi Y., Shiono H., Chikayama Y., Ohnuma A., Nakamura I., Yayou K. (2004) *Transport stress increases somatic cell counts in milks, and enhances the migration capacity of peripheral blood neutrophils of dairy cows*. Clinical Pathology, 66 381-387.
26. Stelwagen K., Hopster H., Van Der Werf J.T.N., Blokhuis H.J. (2000) *Short Communication: Effects of isolation stress on mammary tight junctions in lactating dairy cows*. Journal of Dairy Science, 83 48-51.
27. Caroprese M., Albenzio M., Marzano A., Schena L., Annicchiarico G., Sevi A. (2010) *Relationship between Cortisol Response to Stress and Behavior, Immune Profile, and Production Performances of Dairy Ewes*. Journal of Dairy Science, 93 2395-2403.
28. Rock K.L., Latz E., Ontiveros F., Kono H. (2010) *The sterile inflammatory response*. Annual Review of Immunology, 28 321-342.
29. Fleshner M. (2013) *Stress-evoked sterile inflammation, danger associated molecular patterns (DAMPs) microbial associated molecular patterns (MAMPs) and inflammasome*. Brain, Behavior, and Immunity, 27 1-7.

