

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO
Dipartimento di Medicina Veterinaria
Centro Clinico-Veterinario e Zootecnico-Sperimentale di Lodi
Sezione di Riproduzione



PROGETTO MASTOP

**DIMOSTRAZIONE
SOMMINISTRAZIONE ENDOMAMMARIA DEL LISATO PIASTRINICO
COME AUSILIO TERAPEUTICO NELLA MASTITE BOVINA**



PSR LOMBARDIA
L'INNOVAZIONE
METTE RADICI
2014 2020



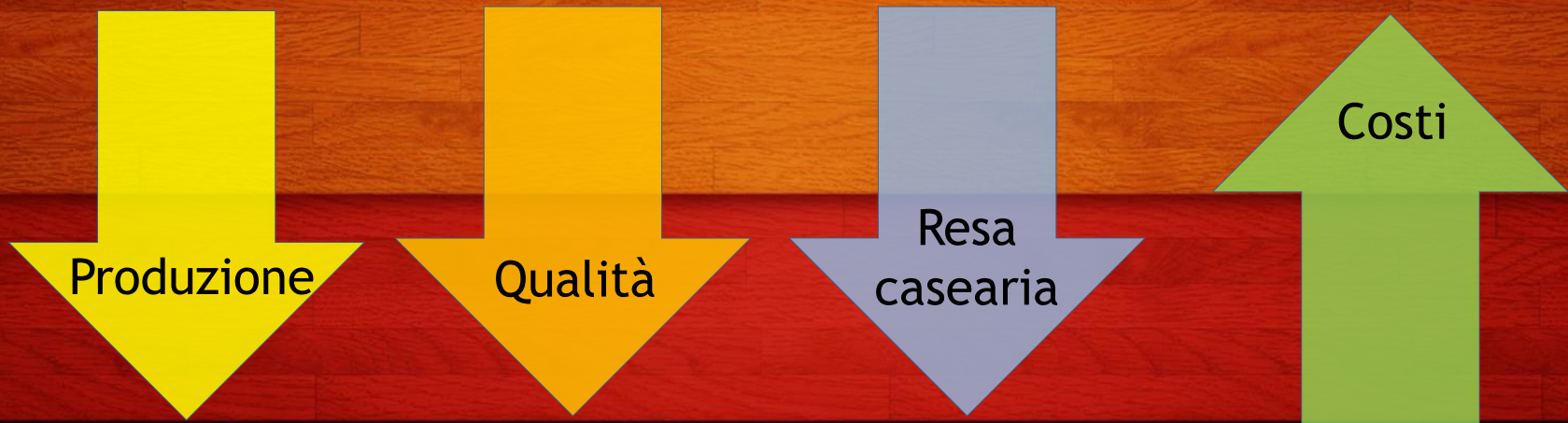
**Regione
Lombardia**

Fondo Europeo Agricolo per lo Sviluppo Rurale: l'Europa investe nelle zone rurali

PSR 2014-2020
Progetto co-finanziato da
Regione Lombardia ed
Università degli Studi di Milano

LA MASTITE

E', innanzitutto, un problema di benessere animale, ma anche una questione di sicurezza alimentare ed è il più grande ostacolo allo sviluppo economico di un'azienda.



DANNO TESSUTO MAMMARIO

• AGENTI PATOGENI E LORO PRODOTTI

• Batteri contagiosi

Str. agalactiae
Staph. aureus

• Batteri ambientali

E.coli
Enterobacter
Serratia
gen. *Streptococcus*

• Batteri opportunisti

Stafilococchi coagulasi negativi

• REAZIONI IMMUNITARIE DELL'OSPITE

INDICATORI DI
INFIAMMAZIONE

CELLULE
SOMATICHE
DEL LATTE



ESAME
BATTERIOLOGICO

Neutrofili

Macrofagi

Linfociti

Cellule epiteliali



<100.000 cell/ml



PROVE
DIAGNOSTICHE
MASTITE

>100.000 cell/ml

INFEZIONE DELLA MAMMELLA

CAMBIAMENTI
NELL'ESPRESSIONE DI GENI
(Sheffield, 1997)

PROTEINE
DEL LATTE

FATTORI
DI
CRESCITA

SUGGERISCE
POSSIBILE RUOLO
NELLA PROTEZIONE
DEL TESSUTO O NEI
PROCESSI DI
RIPARAZIONE

FATTORI DI CRESCITA e GHIANDOLA MAMMARIA

PUBERTA', GRAVIDANZA, LATTAZIONE: RUOLO NELLA MORFOGENESI

IGF

Sopprime l'apoptosi nelle cellule alveolari mammarie durante l'involutione, ruolo proliferazione cellule epiteliali (Hovey et al., 2003)

TGF- β

Regola il processo infiammatorio, aumento dei suoi recettori durante la pubertà (Akers, 2006)

EGF

Sia in vivo sia in vitro potente regolatore proliferazione cellulare sia epiteliale che luminale (Oka et al., 1991)

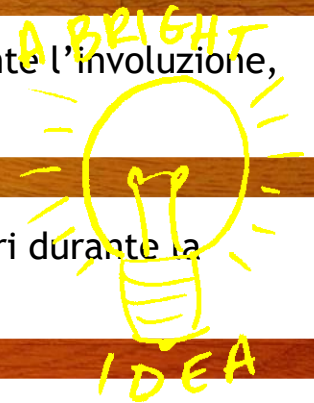
HGF

Angiogenico, mediatore del programma morfogenetico cellulare (Accornero et al., 2009)

FGF

Potente fattore angiogenico, influenza proliferazione cellule epiteliali, morfogenesi ghiandolare, controlla crescita duttale (Akers, 2006)

CHEMOCHINE



Utilizzare
sostanza ricca di fattori di crescita come
coadiuvante terapeutico per potenziare
la riparazione del tessuto,
la protezione delle cellule.

Lisato Piastrinico (LP)

IL LISATO PIASTRINICO (LP)

si ottiene dalla lavorazione del sangue intero con lo scopo di portare le piastrine ad una concentrazione soprafisiologica

Ambito umano

- Odontoiatria e chirurgia maxillo-facciale
- Chirurgia plastica
- Chirurgia oftalmica
- Chirurgia ortopedica
- Guarigione di ulcere pazienti diabetici

Ambito veterinario

- Animali come modello di studio
- Cura delle tendinopatie nel paziente equino
- Guarigione di ferite cutanee nel cane.
- Uso oftalmico nel cane

COME SI PREPARA IL LISATO PIASTRINICO?

Il LISATO piastrinico si ottiene dal sangue



Negli allevamenti che aderiranno al progetto sarà prelevato il sangue da una o più bovine donatrici

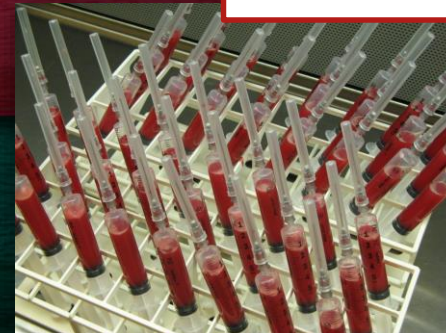
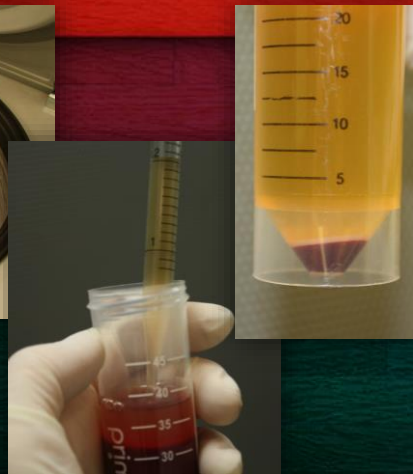
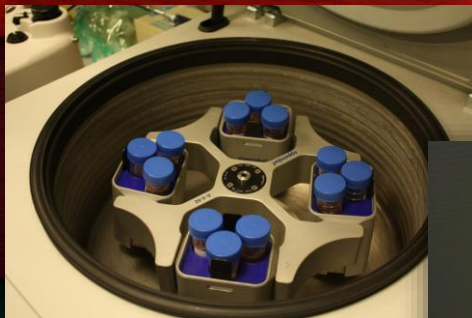


Il sangue sarà trasportato in laboratorio e sottoposto a una serie di centrifugazioni per concentrare le piastrine

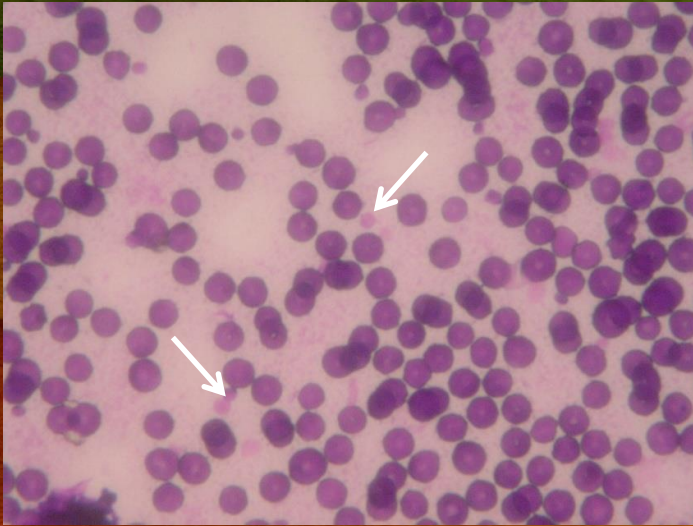
→ *Concentrato Piastrinico*

**3-5 volte superiore
al valore iniziale**

1×10^9 piastrine/ml

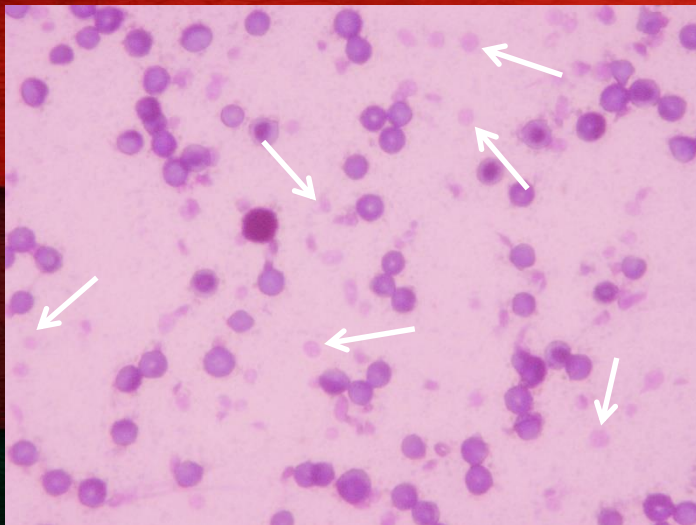


OSSERVAZIONE AL MICROSCOPIO 100X

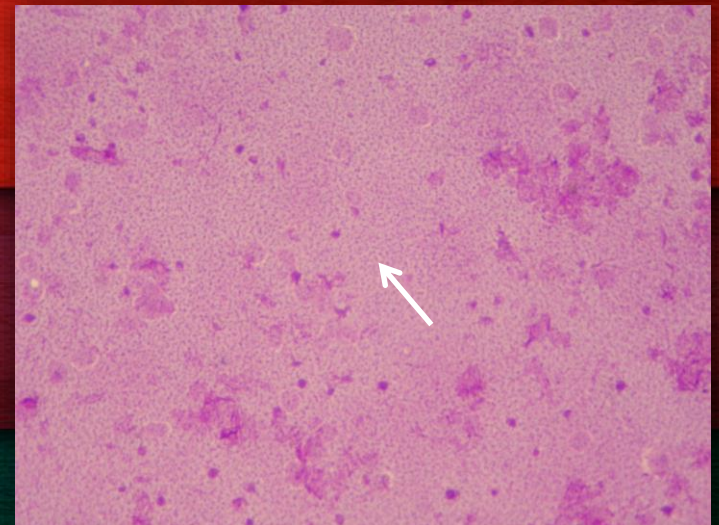


Sangue intero

Il plasma contenente le piastrine concentrate è sottoposto a 3 passaggi di scongelamento e congelamento a -80° per rompere le piastrine (= *lisato piastrinico*) PER LIBERARE I FATTORI DI CRESCITA che sono alla base dell'attività del prodotto.



Concentrato piastrinico fresco



Concentrato piastrinico dopo tre cicli di congelamento/scongelamento

Come agisce il lisato piastrinico?

Le PIASTRINE

- Oltre al ruolo conosciuto nell'emostasi
- Hanno proprietà pro-infiammatorie, regolatrici e rigenerative mediate dall'interazione con alcune cellule (es. neutrofili, cellule endoteliali) e dalla liberazione di fattori di crescita

I FATTORI DI CRESCITA sono proteine che hanno ruolo chiave:

- nei processi di riparazione e rigenerazione tissutale,
- stimolano l'angiogenesi,
- richiamano i macrofagi,
- stimolano la proliferazione e la migrazione dei fibroblasti,
- attivano CELLULE STAMINALI presenti nei tessuti

Applicazione clinica



J. Dairy Sci. 97:6223–6230
<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2014-7999>
© American Dairy Science Association®, 2014.

Intramammary administration of platelet concentrate as an unconventional therapy in bovine mastitis: First clinical application

A. Lange-Consiglio,* C. Spelta,* R. Garlappi,† M. Luini,‡ and F. Cremonesi*§¹

*Large Animal Hospital, Reproduction Unit, Università degli Studi di Milano, 26900 Lodi, Italy

†Private practitioner, 26833 Comazzo, Lodi, Italy

‡Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, 26900 Lodi, Italy

§Department of Veterinary Science for Animal Health, Production and Food Safety, Università degli Studi di Milano, 20133 Milano, Italy

Ha coinvolto 229 bovine

3 gruppi:

1. Gruppo controllo trattato con antibiotico
2. Gruppo trattato LP+antibiotico
3. Gruppo trattato con solo LP

CONTA CELLULE SOMATICHE

Giorno 0 (T 0) pre-trattamento

Giorno 7 (T 7)

Giorno 14 (T 14)

Giorno 30 (T 30)

EVENTI POSITIVI-EFFICACIA DEL TRATTAMENTO

- Riduzione delle SCC ($LS \leq 5$) entro il 30° giorno dal trattamento (T 30)
- Assenza di recidiva

Trasporto e conservazione

- LP eterologo da bovine donatrici
- Consegnate siringhe da 5ml
- Trasporto a 4° C con siberini
- Conservare in azienda nel congelatore a -20° C
- Scongelare la dose necessaria poco prima dell'utilizzo

Modalità di utilizzo

- somministrazione dopo la mungitura
- somministrazione endomammaria

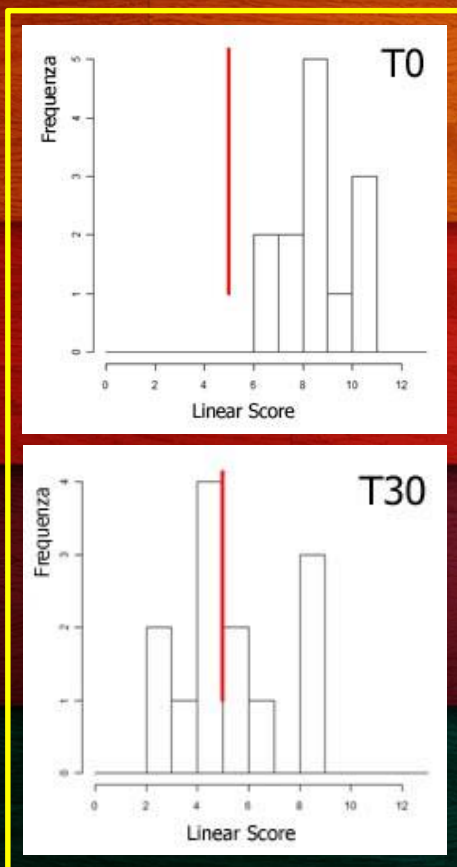


**NON UTILIZZARE ANTINFIAMMATORI
5 GIORNI PRIMA E DURANTE IL TRATTAMENTO
per non ostacolare l'azione del Lisato Piastrinico**

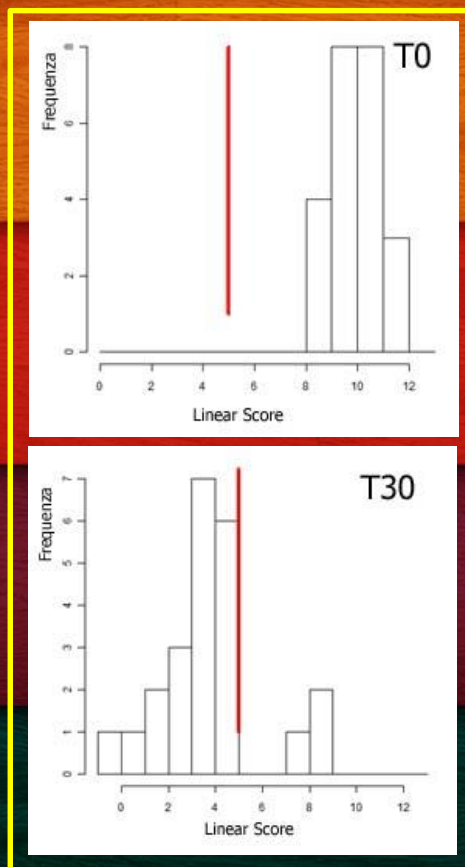
RISULTATI

Trattamento	T 0	T 7	T 14	T 30
Antibiotico	8.5±0.82	6.1±2.27	5.0±2.1	5.0±2.1 ^a
Antibiotico+CP	10±0.83	7.7±2.27	5.5±2.1	3.7±2.1 ^b
CP	8.6±0.82	7.7±2.27	6.10±2.10	4.7±2.1 ^a

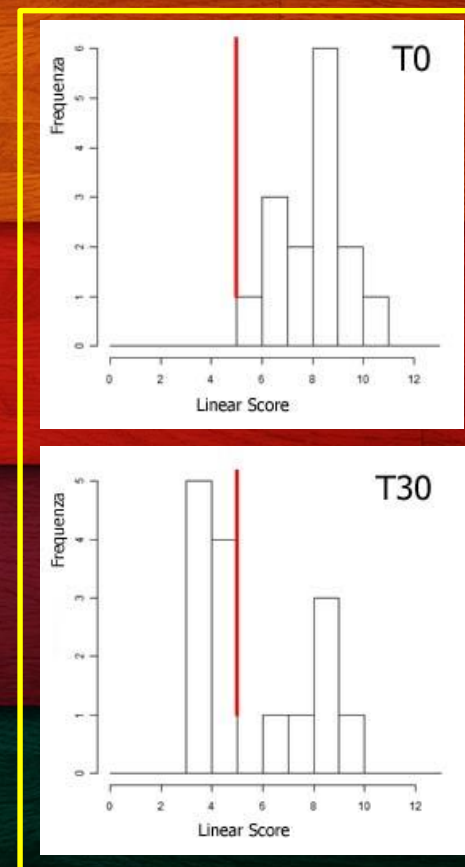
ANTIBIOTICO



ANTIBIOTICO + CP



CP



RISULTATI

TRATTAMENTO	QUARTI MIGLIORATI CON LS ≤ 5	QUARTI CON LS > 5	NON RECIDIVA	RECIDIVA
ANTIBIOTICO	57,14 % ^a	42,86 %	62,50 % ^a	37,50 %
CP e ANTIBIOTICO	86,96 % ^b	13,04 %	95 % ^b	5 %
CP	66,67 % ^{a,b}	33,33 %	77,78 % ^{a,b}	22,22 %



OSSERVAZIONI sulle MASTITI CRONICHE

TRATTAMENTO	QUARTI MIGLIORATI CON $LS \leq 5$	QUARTI CON $LS > 5$	NON RECIDIVA	RECIDIVA
CP e ANTIBIOTICO	100 %	-	100 %	-
CP	60 %	40 %	100 %	-

CONCLUSIONI dello studio sperimentale

Concentrato
piastrinico

Concentrato
piastrinico
+
Antibiotico

Antibiotico

Percentuale maggiore di quarti migliorati

Abbattuto le percentuali di recidiva

IN COSA CONSISTE IL PROGETTO DIMOSTRATIVO

- ✓ Adesione stalle interessate alla prova del Lisato Piastrinico
- ✓ Sopralluogo in azienda dei veterinari collaboratori
- ✓ Selezione stalle secondo parametri già verificati dagli studi precedenti
- ✓ Scelta, a cura dell'allevatore, della o delle bovine donatrici in base a requisiti sanitari garantiti dall'allevatore stesso
- ✓ Prelievo di sangue dalle bovine donatrici (circa 4 sacche da 450ml per ogni allevamento)
- ✓ Ogni allevamento ha la possibilità di trattare 12 quarti mammari nell'arco di un anno
- ✓ Ogni allevamento deve disporre di altrettanti 12 quarti controllo da trattare in modo tradizionale con antibiotico
- ✓ Prelievo di campioni di latte pre e post trattamento → congelamento campioni → consegna Istituto Zooprofilattico Sperimentale sezione di Lodi per conta cellule e per esami batteriologici

ASSISTENZA VETERINARIA

Due veterinari che collaborano con l'Università e con UOFAA saranno disponibili

- per prelevare il sangue,
- per assistere l'allevatore nell'individuare le bovine candidate alla prova del lisato piastrinico,
- per assistere nella scelta del trattamento adeguato alle esigenze aziendali
- per mostrare come preparare la mammella al trattamento
- per guidare all'uso del prodotto.

PROGETTO DIMOSTRATIVO - proposte:

LISATO PIASTRINICO NEL TRATTAMENTO DELLE MASTITI ACUTE

LISATO PIASTRINICO CON O SENZA ANTIBIOTICO nel trattamento delle MASTITI CRONICHE per stimolare ripresa del quarto e per intervenire sulle **recidive**

TRATTAMENTO

- Corretto svuotamento del quarto dopo la mungitura
- DOSE: 5ml (\pm antibiotico)
- 1 VOLTA AL GIORNO per 3 GIORNI CONSECUTIVI

Prelievo di un campione di latte

- al giorno 0 prima del trattamento,
- al giorno 14 dal trattamento
- al giorno 30 dal trattamento



PROVE in ASCIUTTA ANCORA IN SPERIMENTAZIONE

LP nella routine della messa in asciutta

LP + ANTIBIOTICO per la messa in asciutta delle “bovine problema”

TRATTAMENTO

- Corretto svuotamento del quarto dopo la mungitura
- DOSE: 10 ml (\pm antibiotico)
- 1 VOLTA alla messa in asciutta
- Controllo ad una settimana

Prelievo di un campione di latte

- al giorno 0 (prima del trattamento)
- al giorno 7 post-parto.
- al giorno 14 post-parto.

Scheda di adesione

SCHEDA RECLUTAMENTO AZIENDA - Progetto MASTOP

Cognome e Nome _____
Nome Azienda _____
Indirizzo azienda _____
Comune _____ Prov. _____
Recapito tel: _____ e-mail: _____
Veterinario aziendale _____

Numero totale capi: _____ Numero capi in lattazione: _____

Tipo di area di riposo:

- Lettiera permanente Costituita da _____
 Cuccette Con fondo costituito da _____
 Utilizzo disinfettante in lettiera Quale disinfettante? _____

Tipo di alimentazione:

- Unifeed Altro, specificare _____

Tipologia di impianto di mungitura

- Tandem A giostra
 A spina di pesce Robot
 In parallelo

Numero di mungiture giornaliere: _____

Effettua il pre dipping ?

- SI
 NO

Effettua il post dipping?

- SI
 NO

Destinazione del latte:

- Latte destinato al consumo diretto
 Trasformazione

Numero di casi di mastiti mensili: _____ di cui

acute: _____
croniche: _____
recidive: _____

Descriva il protocollo terapeutico per i casi di mastite nella sua azienda (antibiotico, antinfiammatorio, tempi di trattamento...):

Effettua terapia in asciutta? SI NO

Descriva il trattamento alla messa in asciutta: _____

I dati personali sono raccolti e trattati nel rispetto delle norme del D.Lgs. 196/2003, idonee per garantire la riservatezza e la sicurezza dei dati stessi.

SCHEDA di INTERESSE - Progetto MASTOP

Cognome e Nome _____
Nome Azienda _____
Indirizzo azienda _____
Comune _____ Prov. _____
Recapito tel: _____ e-mail: _____
Veterinario aziendale _____

Sono interessato alla dimostrazione di utilizzo del Lisato Piastrinico nella mia azienda per:

- Trattamento mastiti acute
 Trattamento mastiti croniche
 Altro: _____

Sono interessato all' prova del Lisato Piastrinico nella mia azienda per:

- Utilizzo in asciutta in sostituzione dell'antibiotico
 Utilizzo in asciutta nelle "bovine problema" in associazione o meno ad antibiotico
 Altro: _____

Nella mia routine di messa in asciutta:

- Utilizzo sigillante
 Non utilizzo sigillante

Sono un allevamento biologico e sono interessato a limitare l'uso di antibiotico

- SI
 No

I dati personali sono raccolti e trattati nel rispetto delle norme del D.Lgs. 196/2003, idonee per garantire la riservatezza e la sicurezza dei dati stessi.



Grazie per l'attenzione