



# La sperimentazione dell'utilizzo del lisato piastrinico nella cura delle mastiti bovine, attività realizzate e primi risultati

Prof.ssa FLAVIANA GOTTARDO, Dipartimento di Medicina Animale, Produzioni e Salute

Dott. ANTONIO BARBERIO, Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie

Padova, 9 novembre 2021

# Da dove siamo partiti.....



**5 ottobre 2019**



Università di Milano - Dipartimento di Medicina Veterinari

## **LISATO PIASTRINICO**

E' un derivato del sangue costituito da un'alta concentrazione di fattori piastrinici che si ricavano dal sangue della bovina



Il lisato piastrinico è già utilizzato **in Medicina umana** in:

- odontoiatria e chirurgia maxillo-facciale,
- chirurgia plastica, oftalmica ortopedica
- trattamento delle ulcere cutanee in pazienti diabetici

In **Medicina Veterinaria**:

- cura delle tendinopatie negli equini
- ferite cutanee del cane



# Perché questo progetto?

È importante trovare delle strategie per la gestione della sanità della mammella che portino alla riduzione dell'uso di antibiotico nelle stalle di vacche da latte



Lo richiede la  
normativa sul  
farmaco



Lo richiede il  
consumatore

# Perché usare il Lisato Piastrinico per la prevenzione e la cura della mastite ?

I fattori piastrinici contenuti nel LISATO favoriscono la rigenerazione del tessuto e modulano l'infiammazione della mammella

Uno studio dell'Università di Milano ha evidenziato che:

- Il Lisato può essere efficace nei casi di mastite lievi e medie (le più frequenti in allevamento)
- Il lisato messo in confronto con l'antibiotico ha ridotto le recidive
- I risultati migliori si erano ottenuti somministrando contemporaneamente Antibiotico e Lisato.

**Uso alla messa in asciutta della bovina ??**



## Presupposti del progetto sviluppato in Veneto (Agosto 2020 ad oggi):

1. Implementare il metodo di preparazione del Lisato Piastrinico (presso i laboratori dell'Istituto Zooprofilattico delle Venezie);
2. Confermare i promettenti risultati dell'Università di Milano relativi all'impiego del lisato nel trattamento di mastiti lievi e medie
3. Studiare il possibile impiego del lisato alla messa in asciutta delle bovine (nessuna esperienza di ricerca in questo ambito)



Molto importante per il divieto da gennaio 2022  
di utilizzo sistematico di antibiotico

# Chi fa cosa nel Progetto



REGIONE DEL VENETO

**Direzione  
Agroalimentare**



Supervisione del  
progetto

Prelievi e  
campionamenti negli  
allevamenti in  
collaborazione con  
veterinari aziendali e  
personale ARAV

- Preparazione del  
Lisato Piastrinico
- Analisi  
microbiologiche  
sul latte

**Dott. Alberto Zannol, Dott. Giorgio Trentin  
Dott.ssa Monica Vianello, Dott. Carlo Vecchiati**

**Prof.ssa Flaviana Gottardo  
Dott. Giacomo Catarin  
Dott. Luca Panozzo**

**Dott. Antonio Barberio  
Dott. ssa Annalisa Stefani**



- Condivisione dati  
controlli funzionali,  
contatti con le  
aziende,
- analisi del latte  
(cellule somatiche  
totali e differenziali)



Supporto alla  
preparazione del  
lisato e formazione  
del personale di  
laboratorio IZSve

**Dott. Claudio Cattelan  
Dott. ssa Sofia Ton**

**Prof.ssa Anna Lange  
Consiglio**

# 1. Il metodo di produzione del lisato piastrinico

- Prelievo (molta cura alla disinfezione e pulizia del punto di prelievo per evitare di inquinare la sacca di sangue)
- Trasporto della sacca in laboratorio: prima possibile, conservazione in frigorifero
- in laboratorio dopo aver effettuato una serie di centrifugazioni e 3 passaggi di congelamento e scongelamento per provocare la rottura delle piastrine con liberazione dei fattori piastrinici



LP caricato in Siringa da 5ml con ago endomammario



Prova sterilità

# Difficoltà e limitazioni del progetto di ricerca

- Il trattamento è autologo quindi il lisato ricavato da una bovina viene utilizzato per trattare la stessa bovina.
- Il trattamento autologo ha comportato la produzione di un maggior numero di sacche da lavorare per riuscire a trattare un numero minimo di casi
- Tempi lunghi e alta precisione richiesta nell'attività di preparazione del lisato in laboratorio quindi basso numero di sacche lavorabile per giorno



# Produzione di lisato piastrinico: alcuni numeri del progetto

15 allevamenti

7 in Provincia  
di Vicenza

1 in Provincia  
di Padova

2 in Provincia  
di Treviso

2 in Provincia  
di Belluno

1 in Provincia  
di Venezia

2 in Provincia  
di Verona

7 veterinari  
aziendali

1 veterinario  
aziendale

1 veterinario  
aziendale

2 veterinari  
aziendali

1 veterinario  
aziendale

2 veterinari  
aziendali

# Perché coinvolgere tanti allevamenti ?

- Per dimostrare che il lisato funziona in condizioni di «campo» con tutta la variabilità gestionale collegata alle aziende
- Per rendere più efficiente il progetto di ricerca utilizzando l'autologa

1. Il lisato è stato prodotto per **bovine che avevano avuto qualche problema** nella lattazione precedente (più di un rialzo cellulare nella lattazione precedente e/o un caso di mastite)
2. Vacche fresche (maggior resa in lisato)



Grande importanza dei dati dei controlli funzionali e corretta registrazione degli eventi sanitari

# Come si utilizza il Lisato Piastrinico?

- Dopo il completo svuotamento del quarto a fine mungitura, si disinfetta l'orifizio del capezzolo e si somministrare la candeledda intramammaria.
- Si ripete l'operazione per 3 giorni a distanza di 24 h.

## Protocollo già testato

**Mastite clinica**



- **Controllo remissione sintomi**
- **Andamento cellule somatiche**

## Prima esperienza di utilizzo

**Asciutta**



- **si applica il sigillante**

# Impiego del Lisato Piastrinico alla messa in asciutta:

- ✓ Valutazione della storia clinica dell'animale e dell'andamento delle cellule somatiche nel corso della lattazione (**dati dei Controlli Funzionali**)
- ✓ Raccolta di campioni di latte dal **SINGOLO QUARTO** (circa 10 giorni prima della messa in asciutta) per fare effettuare le analisi delle **cellule somatiche totali** e del **microbiologico**



# Come abbiamo impostato lo studio

## Gruppo: SIGILLANTE (S)

Quarti con

- < 200.000 cell/ml
- Microbiologico negativo
- Nessun rialzo cellulare o casi di mastite durante la lattazione

75 quarti

## Gruppo: LISATO PIASTRINICO LP

Quarti sia con cellule sia basse che alte

Microbiologico negativo per:

- Patogeno primari (Aureus e Agalactiae)
- Str. Uberis
- Almeno un rialzo cellulare o 1 caso di mastite durante la lattazione



101 quarti

## Gruppo: ANTIBIOTICO A

Secondo prassi aziendale trattati anche i quarti con cellule < 200.000 se l'azienda non effettuava «asciutta selettiva»



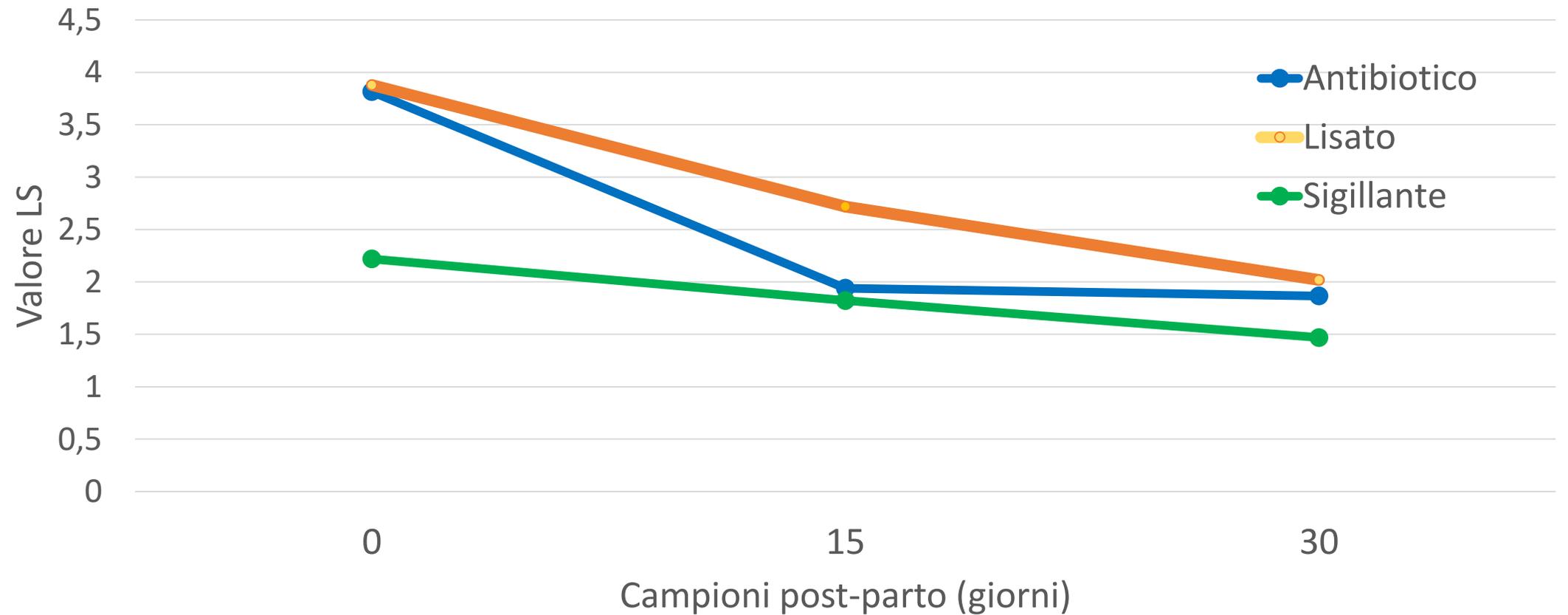
152 quarti

# Controlli effettuati dopo il parto per verificare se il Lisato funziona alla messa in asciutta

- Campione di latte a 15 e a 30 giorni dal parto per analisi cellule somatiche e microbiologiche
- Registrazione di casi di mastite o rialzi cellulari nei primi 30 giorni di lattazione

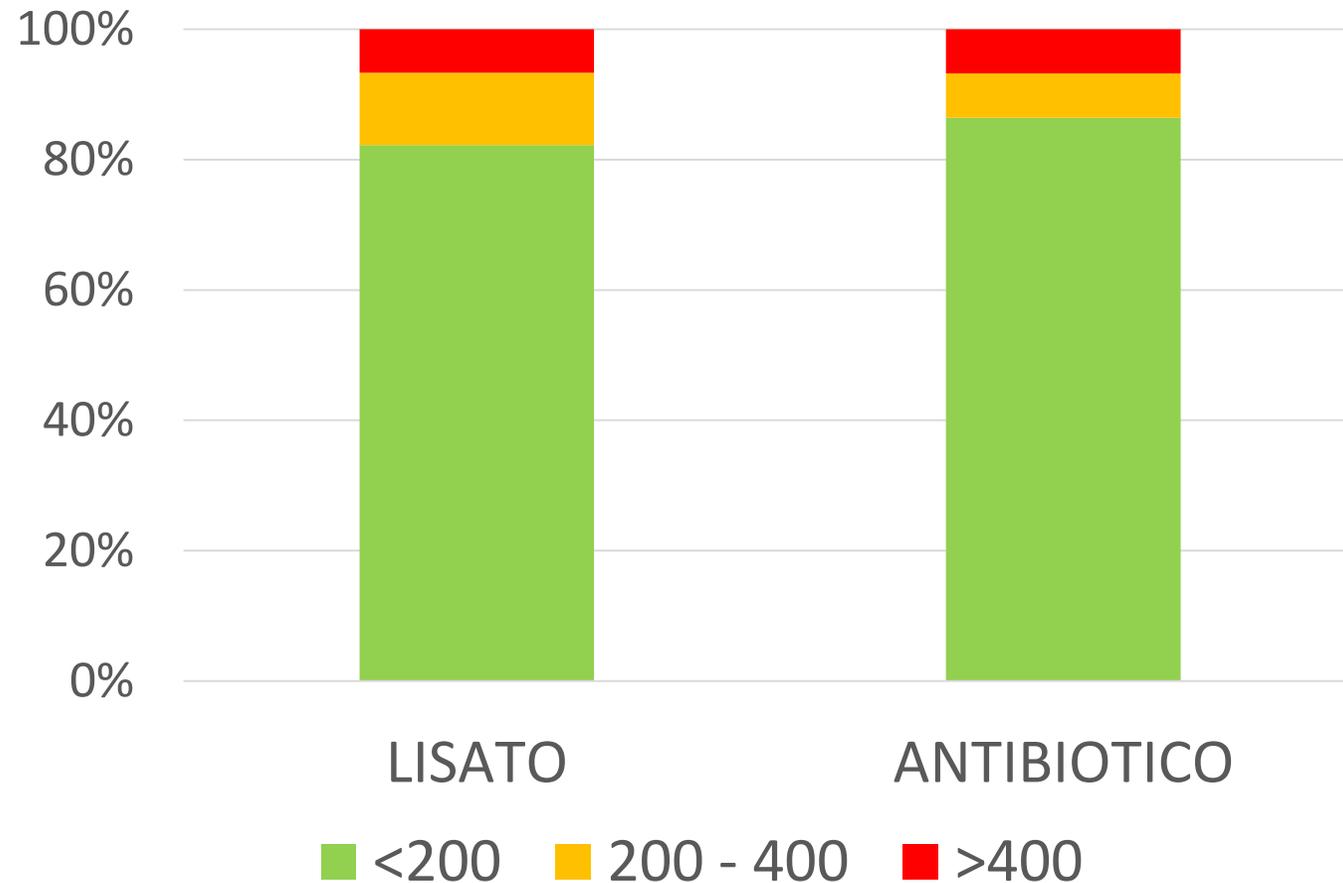


# Cellule somatiche (Is) prima e dopo l'asciutta per i tre gruppi



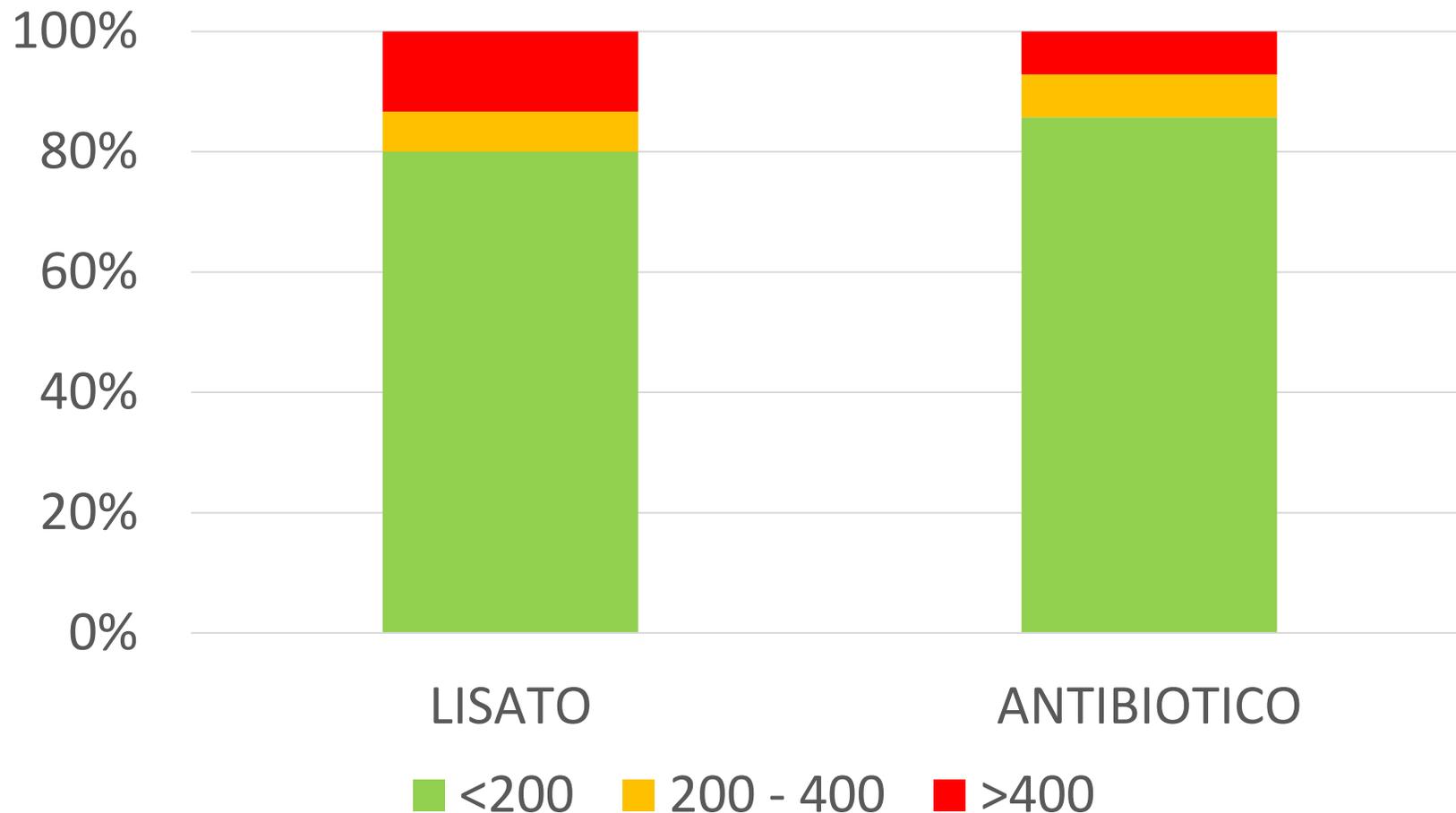
# Cellule somatiche < 200.000/ml all'asciutta...

## *E nel post parto?*



Nessuna differenza  
statisticamente significativa tra  
Lisato e Antibiotico

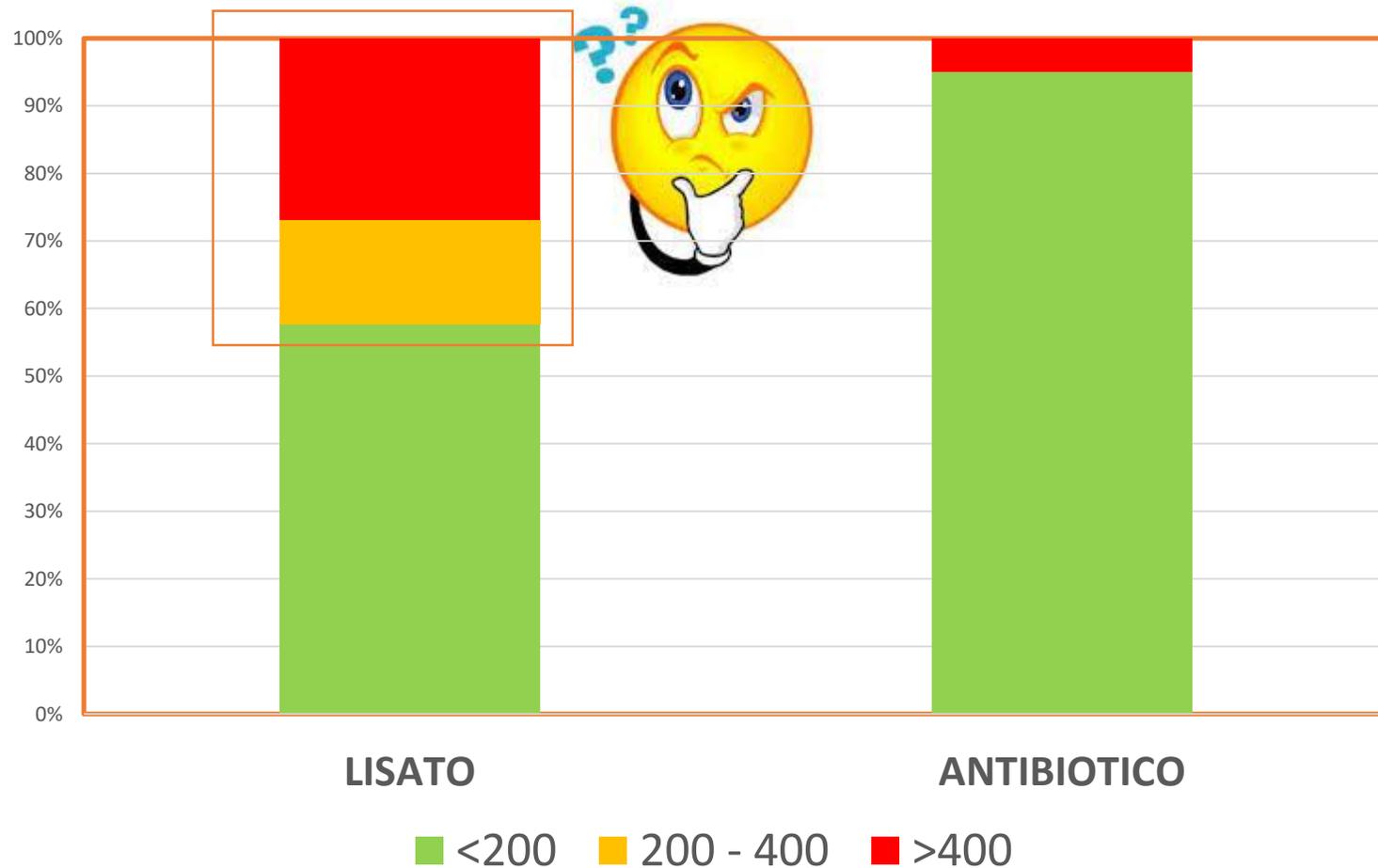
# Cellule somatiche tra 200.000 e 400.000/ml all'asciutta... *E nel post parto?*



Nessuna differenza  
statisticamente significativa  
tra Lisato e Antibiotico

# Cellule somatiche maggiore di 400.000/ml all'asciutta...

*E nel post parto?*



Il valore maggiore delle cellule somatiche nel post parto non è correlato a positività microbiologiche specifiche (CNS, CORYNEBACTERIUM)

# Previsioni di utilizzo del Lisato Piastrinico alla messa in asciutta

Quarti potenzialmente trattabili con LISATO PIASTRINICO (417/599) 70 %

BATTERIOLOGICO	CELLULE SOMATICHE (000)			% sul totale campioni
	< 200	Tra 200 e 400	> 400	
CONTAGIOSI	4%	5%	13%	6%
STR. UBERIS	1%	4%	15%	5%
NEGATIVO	58%	35%	20%	47%
GRAM +	30%	51%	41%	35%
GRAM -	2%	0%	2%	1%
INQUINATO	5%	4%	9%	6%
<b>Totale campioni</b>	379	93	127	599
<b>Casi trattabili LP</b>	337 89%	80 86%		<b>417/599 70%</b>

# Come ha funzionato il Lisato piastrinico nelle vacche considerate a rischio asciutta selettiva?

Quarti con cellule inferiori a 200.000/ml dopo il parto in rapporto alla situazione di partenza alla messa in asciutta

		antibiotico		lisato	
		n. quarti	%	n. quarti	%
n. quarti		38/48	79%	29/39	74%
alla messa in asciutta	< 200		75%		77%
	tra 200 e 400		82%		100%
	>400		89%		61%

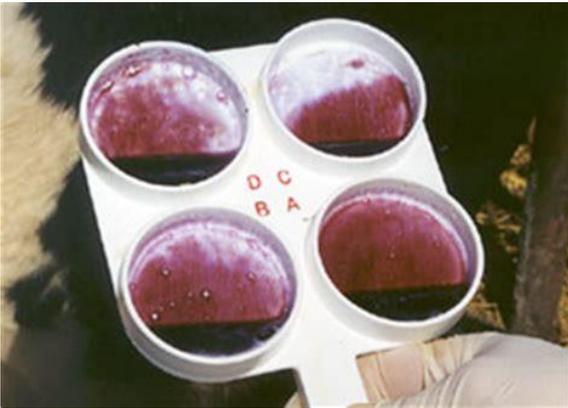
# Conclusioni e prospettive future:

1. Aumentare la casistica
2. Lavorare per semplificare la procedura di trattamento (1 somministrazione invece di 3)
3. Attenta valutazione degli animali a «rischio» considerando:
  - a. i dati dei controlli funzionali durante tutta la lattazione
  - b. analisi microbiologiche sui casi di mastite clinica e in quarti o capi con cellule alte in lattazione



# Il Lisato piastrinico funziona nei casi di mastite clinica ?

Partendo dall'esperienza condotta in Lombardia il Lisato Piastrinico si può utilizzare nella cura di **mastiti cliniche lievi e moderate** non causate da patogeni primari



Un caso di mastite clinica si considera risolto (guarito) quando si verificano queste due condizioni:

1. Remissione dei sintomi clinici (assenza di alterazioni del latte e di segni di infiammazione del quarto mammario) nella prima settimana dal trattamento
2. Abbassamento delle cellule somatiche sotto la soglia delle 200.000 cell/ml entro 30 giorni

# Protocollo dei controlli

- Campione di latte per determinazione cellule somatiche e microbiologico al momento della manifestazione dei sintomi (T0) a 7 (T7) a 14 (T14) e a 30 (T30) giorni dal trattamento
- Valutazione clinica dell'animale

# Trattamento dei casi di mastite clinica: andamento clinico

	ANTIBIOTICO		LISATO PIASTRINICO	
n. casi totali	46		35	
Migliorato	38	82,6%	25	71,4%
Non migliorato	4	8,7%	8	22,9%
Recidiva (ricomparsa dei sintomi)	4	8,7%	2	5,7%

Non c'è una differenza statisticamente significativa tra il fallimento con antibiotico e lisato piastrinico.

P VALUE = 0,353

FALLIMENTO= casi non migliorati + casi recidivi

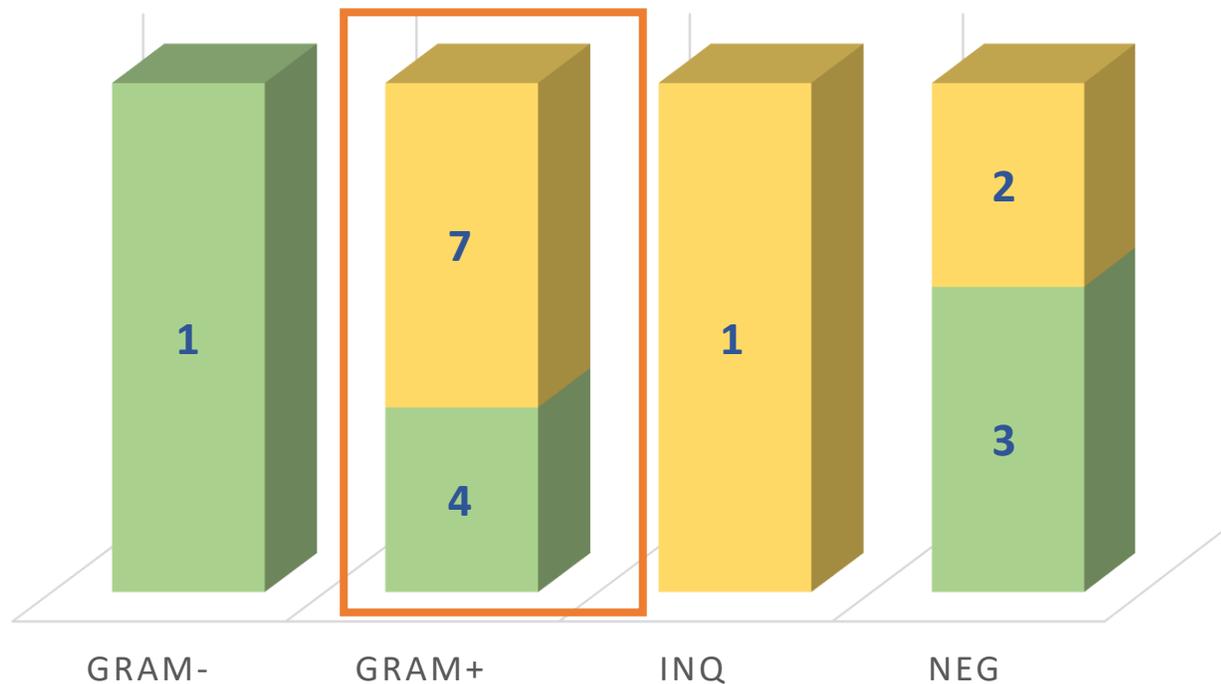
fallimento  
antibiotico  
17 %

fallimento lisato  
piastrinico  
29 %

# Dove non ha funzionato clinicamente il Lisato Piastinico e «fatica» l'antibiotico...

MICROBIOLOGICO FALLIMENTI

■ Antibiotico ■ Lisato Piastrinico



## GRAM+ TESI LISATO

- 1 AUREUS
- 3 UBERIS
- 2 ENTEROCOCCUS
- 1 CORYNEBACTERIUM

## GRAM+ TESI ANTIBIOTICO

- 2 UBERIS
- 2 DISGALACTIAE

# % di casi con cellule somatiche < 200.000/ml a 7-14-30 giorni dal trattamento



	Lisato	Antibiotico	Antibiotico + antinfiammatorio	P =
	% di casi	% di casi	% di casi	
T7	8,3 <sup>b</sup>	18,2 <sup>ab</sup>	43,8 <sup>a</sup>	0,022
T14	22,7 <sup>b</sup>	40,0 <sup>ab</sup>	66,7 <sup>a</sup>	0,028
T30	30,4 <sup>b</sup>	50,0 <sup>ab</sup>	73,3 <sup>a</sup>	0,035

# Considerazioni conclusive per uso del lisato con le mastite cliniche

- La casistica non è elevata (35 casi obiettivo 50 casi) quindi non si possono trarre conclusioni definitive

Sulla base del Lisato piastrinico prodotto:

Animali trattabili Per mastite clinica <200 giorni di lattazione	Numero potenziale di trattamenti su singolo quarto
96	245

# Considerazioni conclusive per uso del lisato con le mastite cliniche

- La casistica non è elevata quindi non si possono trarre conclusioni definitive
- Il Lisato ha un target di azione specifico quindi è importante conoscere lo stato microbiologico del quarto colpito (presenza di patogeni primari e Uberis in particolare)
- Studiare in modo più accurato la composizione dei fattori piastrinici presenti nel lisato per capire che ruolo svolgono nell'andamento delle cellule somatiche post-trattamento



# Importante risultato del progetto



- Si è creato un gruppo di lavoro eterogeneo per formazione e competenze Biologi, Veterinari, Zootecnici che ha collaborato per dare risposta ad un problema complesso presente nelle aziende di vacche la latte,
- Sono aumentate le possibilità di interscambio di informazioni tra allevatori, veterinari aziendali, tecnici dell'associazione e mondo della ricerca



Modello di lavoro che può aumentare la competitività e la sostenibilità delle aziende zootecniche del Veneto

GRAZIE



REGIONE DEL VENETO

- I 15 allevatori che hanno partecipato al progetto per l'impegno sostenuto per la buona riuscita del Progetto
- I veterinari aziendali





- I veterinari dell'Università (Dott. Luca Panozzo e dott. Giacomo Catarin)
- I tecnici di ARAV (Dott. Claudio Cattelan)
- Personale del laboratorio Patologia Clinica ed Ematologia IZSve (dott. ssa Annalisa Stefani, Dr.ssa Erica Littamè, Dott.ssa Elena Albertin)