

CELLULE SOMATICHE NEL LATTE DEI PICCOLI RUMINANTI: LO STATO DELL'ARTE SULLA QUALITA' DEL LATTE E DEI DERIVATI

Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*
Centro di Referenza Nazionale per la Qualità del Latte e dei Prodotti derivati degli Ovini e dei Caprini (C.Re.L.D.O.C.)



izs Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*


ISTITUTO ZOOPROFILATTICO
SPERIMENTALE DELLA SARDEGNA
"G. PEGREFFI"

AGGIORNAMENTI SULLE ATTIVITA' DI RICERCA del C.Re.L.D.O.C. e del C.Re.N.M.O.C.

Roma, 14 Dicembre 2023

Gilberto Giangolini



NUMERO
SPECIALE

QUADERNI DI ZOOPROFILASSI

PERIODICO DELL'ISTITUTO
ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE
DELLE REGIONI LAZIO E TOSCANA

NUMERO 16 LUGLIO 2016

Atti della giornata di studio

Cellule somatiche nel latte ovino e caprino

8 novembre 2013



SIPAOC
Società Italiana di Patologia e Allevamento
degli Ovis e dei Caprae



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri



CONFERMA DI AGENZIA
nazionale per la Qualità
dei prodotti agro-alimentari
e rurali



Il numero delle cellule somatiche è influenzato da numerosi fattori:

Mastiti

Razza

Condizioni ambientali

Tecnica di Mungitura

Numero lattazioni

Stadio di lattazione

Ciclo estrale

Stress

Alimentazione



Tecnica di mungitura

Capre

Prove eseguite con diversi livelli di vuoto (35 e 44 kPa) e diversa tipologia gruppo prendicapezzoli.

Differenze significative sono state riscontrate nel contenuto in cellule somatiche, in relazione alle dimensioni del gruppo prendicapezzoli.



Mastiti

Forme subcliniche causa principale dell'aumento delle cellule somatiche nel latte ovino

Correlazione tra la media geometrica annuale delle CS del latte di massa e la percentuale di pecore affette da mastite subclinica

$$R^2 = 0,795_{(19)}$$

(19) Berthelot et al. 2006



VALORE DISCRIMINANTE

OVINI

Valore discriminante tra animali sani e
animali affetti da mastite

265.000 cell./ml*

(*) Rosati et al. 2005



VALORE FISIOLÓGICO

CAPRINI

*La media delle CS di emimammelle sane era 272.000 cell/ml

***277.000 cell/ml**

*Range CS latte da mammelle sane era 270.000 cell/ml – 2.000.000 cell/ml

***500.000 cell/ml**

****750.000 cell/ml**

*Shehadeh Kaskous et al., 2023 Physiological aspects of milk somatic cell count in small ruminant – A Review

**Brajon G. et al. 2001 –



DIMINUZIONE DELLA PRODUZIONE DI LATTE

Ovini

- in media perdita del **30%** emimammelle infette ⁽²⁰⁾ (C.Re.L.D.O.C.)
- dal **15.9%** al **30%** latte di emimammella ⁽³⁾
- dal **2.6%** al **10%** con cell. Som. 1.900.000 cell/ml ⁽⁵⁾
- **53%** (Gonzalo et al.1994)
- **4,1%** (25% di emimammelle infette) – **8,2%** (50% di emimammelle infette) – **12,2%** (75% di emimammelle infette) ⁽⁹⁾
- Perdite di produzione correlate alla presenza di **patogeni minori 2,6%** e **patogeni maggiori 10,1%** con infezione bilaterale ⁽¹²⁾
- Produzione di latte dalle emimammelle infette da SCN (**0,36** Kg/milking) controlaterale sana (**0,76** Kg/milking) ⁽⁷⁾

(3) Jan Olechnowicz et al. (2010); (5) Gonzalo C. et al. (2002); (7) Leitner G. et al. (2004); (20) Giacinti G. et al. (2010); (9) Leitner G. et al. (2008); (12) Gonzalo C. et al. (2002).



DIMINUIZIONE DELLA PRODUZIONE DI LATTE

Caprini

- già a Bella correlazione $r = -0,46$ tra CS e produzione (Zeng & Escobar, Bella, session 2)
- **10%** con cell.som. $>1.750.000$ cell/ml latte individuale ⁽¹⁾
- emimammelle infette 0,69 vs emimammelle sane 0,98 Kg/milking (**30%**) ⁽⁸⁾
- **30%** emimammelle infette da SCN ⁽⁸⁾
- perdita di produzione giornaliera **15–20%** ⁽²⁵⁾
- **0,8% – 1,5% – 2,3%** Cell. Som. associate a questi risultati in media 820.000 cell/ml 1.300.000 cell/ml – 1.800.000 cell/ml. ⁽⁹⁾
- 3 gruppi – Cell. Som. ($<1.000.000$ cell/ml) – ($1.000.000–2.000.000$ cell/ml) – ($>2.000.000$ cell/ml): perdita del **12%** tra primo e secondo gruppo. Tra secondo e terzo perdita dell' **8%**. Tra primo e terzo gruppo **20%**. Contenuti di lattosio nel latte dei tre gruppi: 4.66%–4.58%–4.51%. ⁽¹⁷⁾
- Perdite di produzione: Alpine da **0,5%** a **12,9%**. Saanen da **0,2%-15,4%**. ⁽¹⁸⁾

(1) Paape M.J. (2001); (8) Leitner G. et al. (2004); (9) Leitner G. et al. (2008); (25) Raynal-Ljutovac et al. (2005); (17) Pazzola M. et al. (2012); (18) Barron-Bravo O.G. et al. (2013)

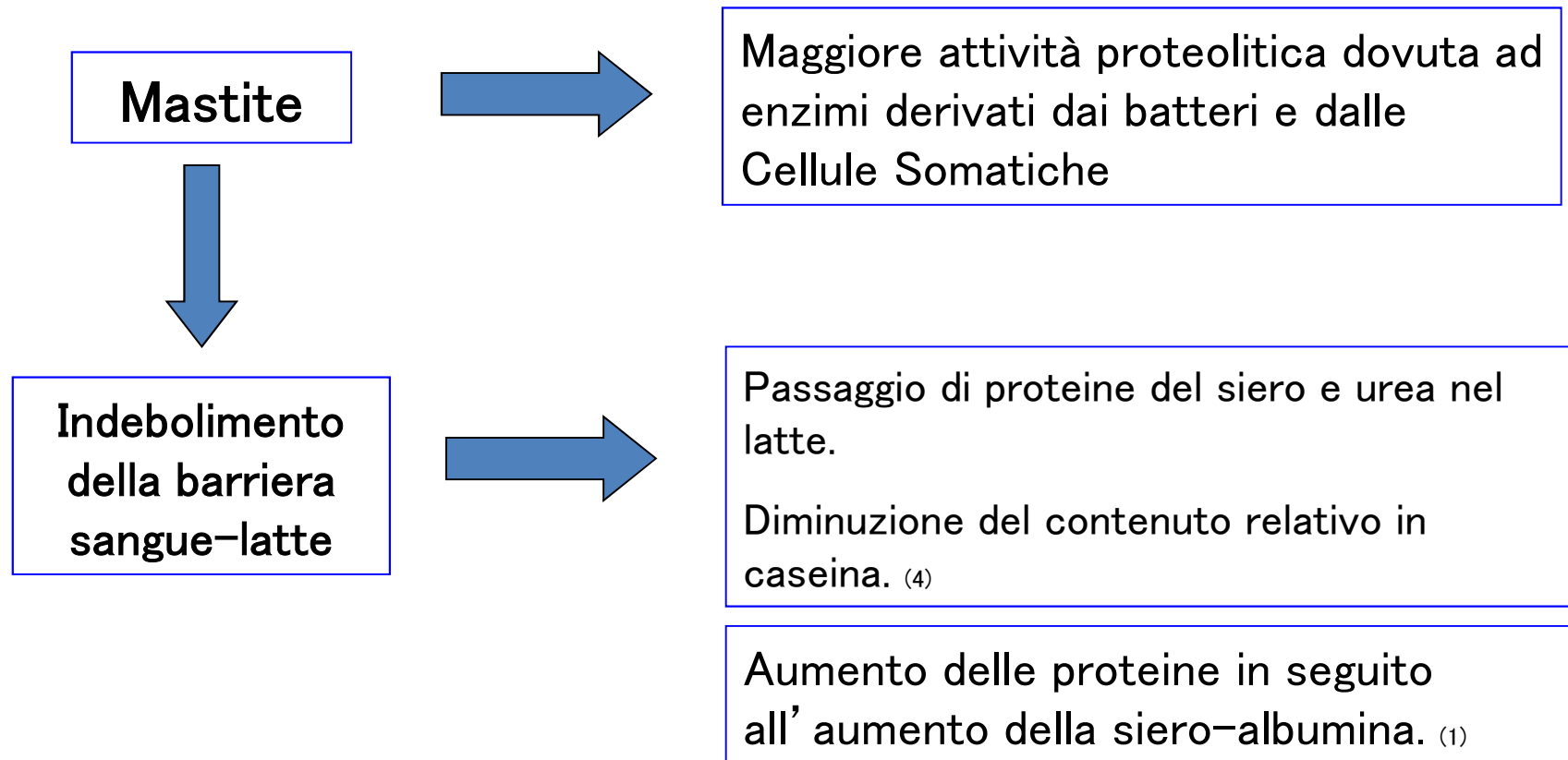


Tra gli altri fattori di variazione la perdita di produzione dovuta alle mastiti subcliniche dipende:

- dalla severità dell'infezione
- dal tipo di batterio
- se l'infezione è unilaterale o bilaterale
- dal tempo in cui è avvenuta l'infezione

Quando l'infezione da SCN è monolaterale si verifica una **compensazione nella produzione di latte nella emimammella sana** così la produzione del singolo animale viene compensata





Si ha quindi un cambiamento nelle funzioni e nell' organizzazione dell' epitelio mammario causando un effetto dannoso sulla quantità e qualità della caseina (4)

(1) Paape M.J. Et al. 2001; (4) Bianchi L. et al. 2004;



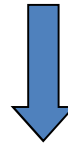
Studio della singola emimammella infetta e controlaterale sana ⁽⁸⁾



Diminuzione del **lattosio** nelle emimammelle infette da SCN

Pecore 25%

Capre 11%



• Capre

Grasso e proteine non differenti in due gruppi con CS 400.000 e 1.750.000 cell/ml ⁽⁸⁾

Pecore

Grasso: 61,7 g/L vs 64,9 g/L

Proteine: 58,5 g/L vs 53,5 g/L ⁽⁷⁾

• Capre - Diminuzione del Grasso: Alpine 0.01-10.8%. Saanen 1,1-16,0%

Diminuzione delle Proteine : Alpine 0.3-7.8%. Saanen 2,0-15,0% ⁽¹⁸⁾

(7) Leitner G. et al. 2004; (8) Leitner G. et al. 2004; (18) Barron-Bravo O.G. et al. 2013;



Due gruppi di pecore, latte individuale con una media di CS 170.000 cell/ml e 466.000 cell/ml (max 839.000 cell/ml):

correlazioni negative con:

caseina ($r = -0.40$)

fosforo ($r = -0.42$)

calcio ($r = -0.485$)

Summer A. et al. 2012



Le cellule somatiche in particolare i Polimorfonucleati (PMN) e i Macrofagi costituiscono un importante fonte di proteasi endogene come gli enzimi lisosomiali e elastasi*.

*Marcinkoniene & Ciprova, 2020

Le proteasi endogene dalle CS come la Catepsina B e G ed elastasi sono state confermate essere responsabili dell'idrolisi della α -s1 caseina e β -caseina.



Plasmina

Enzima proteolitico nel latte.

Si trova nel latte come plasminogeno inattivo, è **attivato** dall'attivatore del plasminogeno.

La conversione del Plasminogeno a Plasmina è regolata da attivatori (urokinase-PA, tissue-PA).

Un incremento dell'attività della Plasmina e dell'attivatore della Plasmina sono associati con il deterioramento delle proprietà coagulative del latte in seguito alla proteolisi della caseina.

M. Charismiadou et al., 2015



Plasmina

Si ha maggiore idrolisi della caseina che determina una diminuzione della β -caseina totale e β_2 -caseina e incremento della γ -caseina e dell'indice di proteolisi nelle mammelle infette ⁽⁴⁾

I peptidi derivanti dall'attività della plasmina sulla β -caseina



Riduzione della risposta cellulare sull'attività secretoria per la produzione del latte ⁽⁷⁾



Riduzione della produzione di lattosio e altri componenti osmotici ⁽⁷⁾.

Gli idrolizzati della caseina non solo causano la riduzione del contenuto in caseina, che non è quindi disponibile per la cagliatura, ma svolgono un ruolo attivo nel ritardare la coagulazione, compromettendo la qualità della cagliata ⁽²²⁾

⁽⁷⁾ Leitner G. et al. 2004; ⁽⁴⁾ Bianchi L. et al. 2004; ⁽²²⁾ Leitner G. et al. 2011;



Attività della plasmina

se è modesta si accompagna ad una bassa riduzione della produzione

Se l'attività è elevata come nel caso di una infiammazione acuta, si associa una riduzione di grasso e proteine ⁽⁷⁾

PROTEOSO PEPTONI

Derivano dalla degradazione delle proteine

Il contenuto in proteoso peptoni è risultato più alto nel latte delle emimammelle infette da SCN rispetto al latte di emimammelle sane ⁽⁷⁾

Ovini: +2,4 volte (247%)

Capre: +1,5 volte (151%)

⁽⁷⁾ Leitner G. et al. 2004;



OVINI

Potrebbero essere considerati INDICI DI PROTEOLISI delle caseine come:



il contenuto in **PROTEOSO PEPTONI** o
FRAZIONI CASEINICHE

insieme alle CS

per valutare la qualità casearia del latte

A. Marti-De Olives et al., 2011



OVINI

Effetto dello stato di salute della mammella sull'attività dell'attivatore del plasminogeno:

Classi CS x 1000	Incremento attività plasminogeno
300-1000	4 volte
>1000	10 volte

rispetto ad un latte con CS <300.000 cell/ml.

M. Charismiadou et al, 2015



Aumento attività della plasmina

Classi CS x 1000	Incremento attività plasminogeno
1000	30%
>1000	43%

rispetto a latte con CS <300.000 cell/ml.

M. Albezio, et al., 2019

*Nelle pecore l'attività della plasmina in mammelle infette è risultata più alta **tra il 32,5% e 73,7%** rispetto alle mammelle sane.

*La k-caseina è più resistente all'azione proteolitica della plasmina.

*A. Marti-De Olives et al., 2020



L'innalzamento del numero delle cellule somatiche può determinare un peggioramento delle caratteristiche qualitative e quantitative dei formaggi?

- Livello delle cellule somatiche
- Trattamento termico (Pastorizzazione)
- Stoccaggio del latte prima della caseificazione
- Tipo di formaggio



Attitudine alla caseificazione del latte

Lattodinamografia

Ovini

aumento del tempo di coagulazione (RCT) e della velocità di formazione del coagulo (k20) e diminuzione della consistenza del coagulo (a30) ⁽¹⁴⁾ ⁽²⁷⁾

Correlazioni con CS :

RCT $r = 0,43$ ⁽¹⁴⁾ $r = 0,19$ ⁽²⁹⁾

k20 $r = 0,41$ ⁽¹⁴⁾ $r = 0,24$ ⁽²⁹⁾

a30 $r = -0,43$ ⁽¹⁴⁾ $r = -0,24$ ⁽²⁹⁾

Il tempo di coagulazione aumenta e la consistenza del coagulo diminuisce all'aumentare del contenuto in plasmina ⁽¹⁰⁾

Caprini

Parametri lattodinamografici latte di tre gruppi: CS (<1.000.000) – (1.000.000–2.000.000) – (>2.000.000 cell/ml).

Non sono emerse correlazioni tra CS e tempo di formazione del coagulo.

Correlazioni significative sono state trovate con il lattosio ($r = -0.488$), produzione del latte ($r = -0.326$) ⁽¹⁷⁾

(10) Battacone G. et al. 2005; (27) Pirisi A. et al. (2000); (17) Pazzola M. et al. 2012; (14) Nudda A. et al. 2001; (29) Giangolini et al.



Caseificazione latte ovino

Minore produzione di cagliata

(minore caseina e aumento dei proteoso-peptoni) ⁽⁷⁾⁽⁹⁾

Perdita di siero

(proteine e grasso non trattenuti nel formaggio) ⁽²⁷⁾⁽²³⁾

Aumento delle proteine solubili ⁽²⁷⁾

Differenze significative riscontrate nel contenuto in calcio solubile, sodio e potassio

Peggioramento nelle caratteristiche qualitative

Difetti di consistenza ⁽²³⁾

Grasso e umidità significativamente più bassi nei formaggi

Dopo 3 mesi di stagionatura il formaggio presentava FFA più elevati e
sapore di rancido più marcato ^{(13) (23)}

(Formaggi prodotti con latte : CS >1.000.000 cell/ml)

⁽⁷⁾ Leitner G. et al. 2004; ⁽⁹⁾ Leitner G. et al. (2008); ⁽¹³⁾ Jaeggi J.J. Et al. 2003; ⁽²³⁾ Raynal-Ljutovac K. Et al. 2007; ⁽²⁷⁾ Pirisi A. et al. (2000);



Caseificazione latte di capra

- Minore produzione di cagliata e allungamento del tempo di coagulazione ⁽²⁾
- Diminuzione della produzione di formaggio espressa in sostanza secca, mentre non si notano differenze se si esprime a peso umido ⁽¹⁾
- Altri Autori non hanno evidenziato effetti nella produzione di formaggio da latte di capra con CS < 1.000.000 cell/ml. ⁽¹⁾

(2) Leitner G. et al. 2004; (1) Raynal-Ljutovac K. Et al. 2007;



Caseificazione latte di capra

Capre a diversi stadi di lattazione – **campioni individuali**

Tre classi di cellule somatiche: 410.000 – 770.000 – 1.250.000 cell/ml ⁽⁶⁾

Nessuna differenza significativa nella composizione del latte e nella resa del formaggio

Il contenuto elevato in CS determina un allungamento del tempo di coagulazione e formazione del coagulo

Si registra un peggioramento nella consistenza e nelle caratteristiche sensoriali del formaggio

Contenuto in FFA più elevato nel formaggio derivato da latte con elevate CS (maggiore lipolisi durante la stagionatura)

(6) Chen S.X. Et al. 2010;



Pecore

Latte di emimammella

Il latte da mammelle infette non coagula bene:

- Tempo di coagulazione
- Consistenza del coagulo più bassa
- La sineresi è più lenta

La conservazione del latte prima della lavorazione ha un effetto negativo sulla qualità ➡ dovuto allo sviluppo dei batteri e all'azione di enzimi come la plasmina e la catepsina

G. Leitner et al. 2019

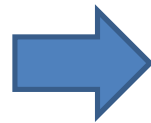


La sineresi

ha un impatto significativo sulla qualità del formaggio.

Può essere definita come l'espulsione del siero dalla cagliata mediante taglio, agitazione e riscaldamento.

Le condizioni di coagulazione e sineresi determinano le proprietà finali di un formaggio



a causa della loro influenza sul contenuto di umidità, proteine e grassi.

V. Garcia et al., 2014



STUDIO OVINI 1

Produzione di Formaggi freschi con latte sano e infetto da SCN

CS non infette: 239.000 cell/ml

Miscela CS 75:25: 602.000 cell/ml

Miscela CS 50:50: 1.096.000 cell/ml

CS infette: 3.467.000

Miscela di latte 50:50  Perdita di Grasso nel formaggio
(CS 1.096.000 cell/ml)

Miscela di latte 75:25  Nessuna perdita di Grasso nel
formaggio (CS 602.000 cell/ml)

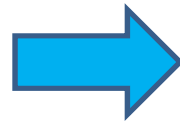
R. Maristela et al., 2015



STUDIO OVINI 1

Produzione Formaggi freschi

Lo stoccaggio
prolungato del latte
di bassa qualità



aumenta il deterioramento
della qualità del latte.

La trasformazione rapida del latte in formaggio può attenuare
le perdite di resa casearia dovute alla scarsa qualità del latte

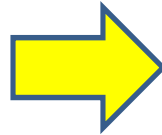
R. Maristela et al., 2015



STUDIO OVINI 2

Formaggio stagionato

Il formaggio prodotto con
il 25% o il 50% di latte
proveniente da ghiandole
infette



non ha portato a cambiamenti
evidenti nel peso finale del
formaggio ma solo a perdite
minori di contenuto di grassi
e proteine

M. Rovai et al., 2015



Caseificazione e amine biogene

Le Cellule Somatiche possono incrementare la proteolisi e lipolisi nel formaggio, ciò può determinare la produzione di



AMINE BIOGENE e sviluppo di sapori sgradevoli

Morandi et al. 2021



STUDIO CAPRE 1

Valutazione degli effetti dell'aggiunta di cellule somatiche sulla composizione chimica, sulla proteolisi e sulla lipolisi nel formaggio caprino fresco.

Aggiunta di CS



Aumenta la proteolisi delle caseine α S1, α S2 e para-k-caseina nei formaggi magri prodotti con latte caprino crudo dopo 7 giorni di maturazione.

Proteolisi risulta ridotta per tutte le caseine studiate



quando veniva utilizzato latte caprino pastorizzato per la produzione del formaggio.

D. Sanchez-Macias et al., 2020



STUDIO CAPRE 2

Generalmente la proteolisi nel latte con un basso numero di CS è dominata dalla Plasmina con un piccolo contributo della Catepsina D, ma **con l' aumento delle CS il contributo degli altri enzimi come la Catepsina D aumenta notevolmente.**

L' attività della Catepsina D è doppia nel latte di capra con CS da 700.000 cell/ml a 1.500.000 cell/ml.

P.B. Gautam, R. Sharma, Y. Atbhaiya et al., 2023



OVINI e CAPRINI

Categorie di cellule somatiche e % di mammelle infette:

Giudizio	CS/ml x 1000	% mammelle infette
Latte di alta qualità	<800	<25%
Media qualità	800 a 1500	Tra 25 e 50%
Bassa qualità (pecore)	1500 a 2500	>50%
Bassa qualità (capre)	1500 a 3500	
Non idoneo al consumo (pecore)	>2500	
Non idoneo al consumo (capre)	>3500	

G. Leitner et al., 2016



LATTE OVINO

Nel latte di massa ovino i cambiamenti dovuti alle cellule somatiche sono significativi da **500.000 cell/ml**

Marti-De Olives et al. 2015

Valori SCC raccomandati nel latte di
pecora 500.000 cellule/ml

Shehadeh Kaskous et al., 2023

Poiché le proprietà di coagulazione del latte, misurate a livello di laboratorio, sono predittive della resa e della qualità del formaggio, il valore di **545.000 cell/ml** può essere proposto come limite per migliorare le caratteristiche casearie del latte della **pecora Sarda**

P. Paschino et al., 2019



LATTE CAPRINO

Cambiamenti nella qualità del latte con **SCC > 600.000/mL** in un allevamento che mantiene standard igienico-sanitari molto elevati e senza alcuna presenza significativa di batteri che causano la mastite nella ghiandola mammaria.

Klara Podhorecka et al., 2021

Valori SCC raccomandati nel latte di
capra 750.000 cellule/ml

Shehadeh Kaskous et al., 2023

Nel latte caprino, un valore di **700.000 cellule/mL** può rappresentare una soglia indicatrice dei cambiamenti nello stato immunitario della ghiandola mammaria.

M. Albezio et al., 2015



Attualmente l'attenzione si è spostata dalla conta cellulare totale alla conta differenziale dei leucociti

M. Albezio, et al., 2019



La combinazione dell'incremento delle CS e dell'incremento della proporzione tra **polimorfonucleati e linfociti (>65%)** sono stati confermati come diagnosi di mastite subclinica nelle pecore.

(Vasileiou, 2018)



***CAPRE SANE – I PMN sono il tipo di cellula principale nel latte di capre sane non infette e costituiscono il 40–80% della SCC.**

***PECORE SANE – i macrofagi (45–88%) sono il tipo di cellula principale nel latte di pecora, con un minor numero di PMN (10–35%), linfociti (10–17%) e cellule epiteliali (2–3%)**

***La mastite (subclinica o clinica) aumenta il contenuto di PMN nel latte di pecora.**

**Shehadeh Kaskous et al., 2023*

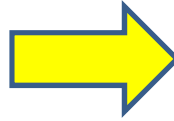
I polimorfonucleati sono predominanti nel latte di mammelle sane ed infette di capra.

Morandi et al. 2021



CONCLUSIONI

•Cellule somatiche elevate nelle pecore e nelle capre determinano



•perdita di produzione

•modifica della composizione del latte che può determinare effetti negativi sulla produzione e sulle caratteristiche qualitative del formaggio.

•In base ai risultati degli studi sulla qualità del latte, destinato alla caseificazione, si potrebbe ipotizzare un limite di CS:

•OVINI 600.000 cell/ml

•CAPRINI 800.000 cell/ml



·I molti fattori di variabilità che intervengono nell'aumento delle cellule somatiche vanno tenuti in considerazione nel caso di pagamenti del latte in base alla qualità.

·E' necessario un **piano di controllo delle mastopatie** dei piccoli ruminanti allo scopo di migliorare la qualità igienica del latte e contribuire al **ritorno economico per l'allevatore e per il caseificio**.

·In mancanza di un limite legislativo per le cellule somatiche è necessario attuare progetti sperimentali che possano far crescere l'interesse per questo parametro.



PROSPETTIVE DI STUDIO

Mediante le tecniche di filtrazione su membrana è possibile la separazione delle cellule somatiche dal latte crudo.

Tale tecnica consentirebbe di studiare più approfonditamente la lipolisi e la proteolisi nei formaggi, determinata dalle cellule somatiche.



*Il conteggio delle cellule somatiche rappresenta, anche per i piccoli ruminanti, un valido ausilio per la definizione dello stato sanitario della mammella; il fatto che questo parametro non venga per ora contemplato da alcuna specifica normativa non ne diminuisce, a nostro avviso, l'importanza alla luce della preoccupante diffusione delle mastiti sub-cliniche da noi e da altri autori riscontrata.**

(*) Rosati et al. 2005



