



UNIVERSITÀ
CATTOLICA
del Sacro Cuore

Largo Gemelli 1, Milano

Relazione di progetto finale

Strumenti innovativi nello studio e gestione dello stato sanitario della mammella e del benessere animale finalizzati al miglioramento della qualità nutrizionale e dell'attitudine casearia del latte

ACRONIMO DEL PROGETTO: LATSAN

Piacenza, 15 marzo 2022

Largo Gemelli 1, Milano

Indice

1. Progetto	3
2. Descrizione del progetto	5
3. Relazione intermedia/finale del progetto	8
4. Obiettivi, benefici e criticità del progetto	12
5. Ostacoli occorsi ed azioni correttive messe in atto	16



Largo Gemelli 1, Milano

Progetto

Dati generali

Titolo del progetto	Strumenti innovativi nello studio e gestione dello stato sanitario della mammella e del benessere animale finalizzati al miglioramento della qualità nutrizionale e dell'attitudine casearia del latte
Acronimo del progetto	LATSAN
Area strategica di intervento¹	Area 1 - Aumento sostenibile della produttività, della redditività e dell'efficienza delle risorse negli agro-ecosistemi
Linea di attività²	c. Ottimizzazione dei processi produttivi (tecnica colturale, alimentazione, benessere animale, pratiche di prevenzione, risparmio energetico, ecc.), anche mediante l'utilizzo di sistemi di supporto alle decisioni (telerilevamento, agricoltura e zootecnia di precisione, meccanizzazione integrale, robotica e altri sistemi automatici intelligenti, applicazione di principi e strumenti di intelligenza artificiale ecc.) e biotecnologie sostenibili;
Settore produttivo³	a) Zootecnico
Tipo di progetto	Bando
Riferimento del Bando/Affidamento diretto/Sportello	DG DISR - DISR 04 - Prot. Uscita N.0027443 del 25/09/2018. Procedura di selezione per la concessione di contributi finalizzati alla realizzazione di progetti di ricerca nell'ambito del fondo per gli investimenti nel settore lattiero caseario, ai sensi dell'articolo 8 del Decreto 18 aprile 2016, n. 4293, e successive modifiche, concernente la ripartizione delle risorse del fondo per gli investimenti nel settore lattiero caseario ai sensi dell'articolo 1, commi 214-217, della legge 23 dicembre 2014, n. 190 (legge di stabilità 2015).
Durata del progetto	24 mesi + proroga di 8 mesi
Costo ammesso	274.920,00
Contributo concesso	272.170,80
Importo rendicontato	260.958,93

Soggetto proponente il progetto	Università Cattolica del Sacro Cuore	Natura giuridica Università non statale
Rappresentante legale	Franco Anelli, NLLFNC63H26G535T	

Coordinatore del progetto	Prof. Riccardo Negrini- NGRRCR68C07L682B
----------------------------------	--

Numero di Unità Operative	Due
----------------------------------	-----

ELENCO DELLE UNITÀ OPERATIVE

Unità Operativa n. 1 - Denominazione	UCSC - DIANA	Natura giuridica Università non statale
---	--------------	--



UNIVERSITÀ
CATTOLICA
del Sacro Cuore

Largo Gemelli 1, Milano

Unità Operativa n. 2 - Denominazione	UNIPD - DAFNAE	Natura giuridica Pubblica
---	----------------	------------------------------

Descrizione del progetto



Largo Gemelli 1, Milano

Sintesi del progetto

Negli anni recenti, il comparto lattiero-caseario italiano lamenta peggioramenti della qualità tecnologica del latte e le cause sembrano imputabili all'accresciuta incidenza di patologie a carico dell'apparato mammario, all'alimentazione delle bovine, allo stress ambientale e a fattori genetici propri degli animali.

Le infezioni mammarie colpiscono almeno il 25% delle bovine durante la lattazione, riducono qualità e quantità di latte prodotto, l'efficienza casearia e le proprietà nutrizionali. L'impatto economico medio delle mastiti in Italia è stimato tra i 50 e i 150€ per vacca. Oltre a problemi economici, ne esistono altri di natura sanitaria: potenziale rischio di tossinfezione alimentare (enterotossine *S.aureus*), ma soprattutto, possibilità di sviluppo di batteri multi-resistenti ed in particolare di MRSA per le terapie antibiotiche utilizzate per la cura delle mastiti.

Infine, è stato dimostrato il ruolo delle infezioni mammarie nel ridurre il benessere e la longevità degli animali, dal momento che la mastite è una significativa causa singola di riforma involontaria delle vacche da latte, ed ha inoltre un impatto negativo sulle performance riproduttive, contribuendo indirettamente ad aumentare il rischio di eliminazione precoce delle bovine. Per poter ridurre i costi, migliorare le produzioni e aumentare il benessere animale, i tradizionali approcci terapeutici e vaccinali si sono dimostrati insufficienti, se non rischiosi.

La ghiandola mammaria possiede un efficace sistema immunitario, che costituisce la prima linea di difesa nei confronti dei patogeni. Tale difesa è sostenuta essenzialmente da due meccanismi differenti, che vedono da un lato l'attivazione di una risposta immunitaria a livello mammario e dall'altro la produzione di proteasi ed altri enzimi specifici che interferiscono con il complesso sistema costituito dalle differenti componenti del latte. Da lungo tempo, l'unico parametro utilizzato di routine per indicare la presenza di agenti patogeni responsabili di possibile infezione, con conseguente incremento dei rischi di deterioramento della qualità nutrizionale e tecnologica del latte, nonché del benessere dell'animale, è la conta delle cellule somatiche (SCC). È altrettanto noto però che la sola determinazione di SCC non fornisce indicazioni esaurienti sull'entità dell'infezione all'apparato mammario, soprattutto negli animali affetti da mastite sub-clinica. Obiettivo generale del progetto LATSAN è la comprensione dei complessi meccanismi fenotipici, genomici e trascrittomici alla base della mastite e l'identificazione di nuovi caratteri legati alla sanità della mammella e alla qualità del latte (in particolar modo profilo proteico) per produrre nuove conoscenze biologiche, definire nuovi fenotipi, approntare strumenti innovativi per il rilievo di tali fenotipi e strumenti molecolari da applicare nei programmi di selezione per migliorare la resistenza degli animali, ridurre l'uso di antibiotici e di conseguenza contrastare il fenomeno dell'antibiotico-resistenza. Tali risultati saranno raggiungibili solo se il fenomeno sarà studiato nel suo complesso attraverso un approccio olistico, tenendo anche conto della natura degli agenti eziologici, il relativo impatto sulla sanità della mammella, sulla qualità del latte e dei prodotti derivati, particolarmente quando questi sono destinati al consumo umano. Per raggiungere l'obiettivo generale, saranno approfonditi diversi aspetti analizzando il latte individuale di circa 1,000 vacche di razza Frisone Italiana di diversi allevamenti. Gli allevamenti verranno scelti per rappresentare diverse realtà gestionali, considerando strutture di allevamento, modalità di somministrazione degli alimenti e caratteristiche delle razioni. Sul latte individuale, saranno condotte diverse analisi come SCC (indicatore classico di sanità), esame batteriologico e determinazioni di altri indicatori dello stato di salute della mammella misurabili su sangue, siero e latte. Saranno inoltre condotte analisi specifiche sulla composizione, profilo proteico e attitudine casearia del latte. Le diverse informazioni individuali raccolte saranno utilizzate per sviluppare calibrazioni FTIR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy) finalizzate all'individuazione di nuovi fenotipi indicatori di 'sanità' e 'qualità' del latte che permettano la creazione di un rapido ed efficiente sistema per la valutazione dello stato di salute dell'animale che integri, supporti e completi il sistema di diagnosi tradizionale basato sulle SCC. Per quanto riguarda l'aspetto genetico, saranno stimati parametri genetici relativi ai nuovi fenotipi 'sanità' e 'qualità' e condotto uno studio GWAS (Genome Wide Association Study). Per quanto concerne la parte di funzionalità della ghiandola mammaria, sarà condotto uno studio dei diversi fattori coinvolti nella modulazione della patogenesi in risposta a diversi microrganismi (*S. aureus*, *Str. agalactiae*, *M. bovis* e *Prototheca spp.*) importanti agenti eziologici della mastite bovina. In particolare, saranno valutati nei quarti infetti e quarti sani dello stesso individuo i cambiamenti di rapporti delle diverse popolazioni leucocitarie mediante analisi citofluorimetrica del latte, i cambiamenti nel microbioma mammario e la risposta immediata dell'animale all'infezione tramite analisi del trascrittoma mammario. Le nuove conoscenze biologiche e scientifiche, di sicuro impatto nel contesto nazionale e internazionale, trovano nell'ambito del progetto immediate ricadute tecnologiche ed applicative, principalmente sotto forma di nuovi indicatori di qualità del latte e sanità della mammella rapidi, economici e non invasivi da utilizzare sia nell'ambito della gestione dell'allevamento e del benessere animale che in quello del miglioramento genetico degli animali. L'ambito affrontato, le metodologie proposte e le ricadute previste costituiscono una garanzia sull'impatto economico del progetto, vista anche la rilevanza delle problematiche di sanità della mammella e del benessere animale nel settore lattiero-caseario. Nel valutare l'impatto scientifico va inoltre considerata la sua notevole ricaduta sulla salute umana che riguarda il controllo di potenziali tossinfezioni (enterotossine *S.aureus*) e dell'insorgenza di antibiotico-resistenze.



Largo Gemelli 1, Milano

Largo Gemelli 1, Milano

SPAZIO RISERVATO AL COORDINATORE DEL PROGETTO

Relazione tecnico-scientifica finale max 20 pagine



Largo Gemelli 1, Milano

Di seguito si descrivono i risultati conseguiti dal progetto LATSAN e che sono stati oggetto di una serie di pubblicazioni scientifiche su riviste di settore ad elevato impatto

Il progetto LATSAN ha prodotto, ad oggi, i seguenti contributi scientifici pubblicati o in fase di pubblicazione sulla rivista Journal of Dairy Science:

1. Pegolo, S., D. Giannuzzi, V. Bisutti, R. Tessari, M.E. Gelain, L. Gallo, S. Schiavon, F. Tagliapietra, E. Trevisi, P. Ajmone Marsan, G. Bittante, and A. Cecchinato. 2021. Associations between differential somatic cell count and milk yield, quality, and technological characteristics in Holstein cows. J. Dairy Sci. 104:4822–4836. [doi:10.3168/jds.2020-19084](https://doi.org/10.3168/jds.2020-19084).
2. Pegolo, S., L. F. M. Mota, V. Bisutti, M. Martinez-Castillero, D. Giannuzzi, L. Gallo, S. Schiavon, F. Tagliapietra, A. Revello Chion, E. Trevisi, R. Negrini, P. Ajmone Marsan, and A. Cecchinato. 2021. Genetic parameters of differential somatic cell count, milk composition, and cheese-making traits measured and predicted using spectral data in Holstein cows. J. Dairy Sci. 104:10934–10949. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-20395>.
3. Pegolo, S., R. Tessari, V. Bisutti, A. Vanzin, D. Giannuzzi, M. Gianesella, A. Lisuzzo, E. Fiore, A. Barberio, E. Schiavon, E. Trevisi, F. Piccioli Cappelli, L. Gallo, P. Ruegg, R. Negrini, and A. Cecchinato. 2022. Quarter-level analyses of the associations among subclinical intramammary infection and milk quality, udder health and cheese-making traits in Holstein cows. J. Dairy Sci. 105:3490–3507 <https://doi.org/10.3168/jds.2021-21267>
4. Pegolo S., A. Toscano, V. Bisutti, D. Giannuzzi, A. Vanzin, A. Lisuzzo, F. Bonsembiante, M. E. Gelain and A. Cecchinato. 2022. Streptococcus agalactiae and Prototheca spp induce different mammary gland leukocyte responses in Holstein cows. J. Dairy Sci. Accepted 28 March 2022.
5. Bisutti V., A. Vanzin, A. Toscano, S. Pegolo, D. Giannuzzi, F. Tagliapietra, S. Schiavon, L. Gallo, E. Trevisi, R. Negrini, A. Cecchinato. 2022. Impact of somatic cell count combined with differential somatic
6. cell count on milk protein fractions in Holstein cattle. J. Dairy Sci. Submitted and under peer review.

Di seguito vengono descritti i risultati principali suddivisi per aree tematiche

1) Associazione tra cellule somatiche differenziali e parametri qualitative del latte in razza Frisona

Lo scopo di questo studio è stato quello di studiare le associazioni tra la conta differenziale delle cellule somatiche (DSCC) e la quantità e qualità del latte nonché le caratteristiche di salute della mammella. Oltre a questi aspetti sono stati approfonditi anche i legami tra DSCC e le proprietà di coagulazione del latte e le caratteristiche casearie. Lo studio è stato condotto su un campione di 1,264 bovine di razza Frisona Italiana.

La conta differenziale delle cellule somatiche rappresenta la proporzione combinata di neutrofili polimorfonucleati più linfociti (*Polymorphonuclear Neutrophils plus Lymphocytes*, PMN-LYM) espressa sul totale delle cellule somatiche (*Somatic Cell Count*, SCC). Il complemento a cento di questa proporzione è rappresentata dalla componente dei macrofagi (*Macrophages*, MAC).

In questo studio sono state prese in esame le caratteristiche standard del latte quali la produzione di latte, la percentuale di grasso, proteina, caseina (e il rapporto caseina:proteina), lattosio, urea, pH e conducibilità elettrica, 9 caratteri di coagulazione del latte [3 parametri relativi alle proprietà di coagulazione (*Milk Coagulation Properties*, MCP) e 6 caratteri di rassodamento della cagliata (*Curd Firmness*, CF)], 7 caratteri di caseificazione, 3 caratteri di resa del casearia (*Cheese Yield*: CY) e 4 caratteri di recupero dei nutrienti nella cagliata (*Recoveries*: REC).

L'analisi statistica è stata condotta attraverso un modello lineare misto che ha consentito di esplorare le associazioni tra i suddetti caratteri di funzionalità della mammella e le DSCC, abbinate al dato di SCS (*Somatic Cell Score*, ovvero trasformata logaritmica del dato di SCC) a parità di effetti ambientali individuali quali lo stadio di lattazione, l'ordine di parto della bovina e la data di controllo. Un ulteriore modello statistico è stato considerato al fine di valutare l'effetto delle DSCC con un approccio di tipo quantitativo, ovvero moltiplicando il dato percentuale di PMN-LYM e quello di MAC per il contenuto totale di cellule somatiche.

Largo Gemelli 1, Milano

I risultati di questo studio hanno confermato un'associazione sfavorevole tra SCS e qualità del latte e caratteristiche tecnologiche. L'aumento delle DSCC è stato invece associato a un aumento lineare di produzione di latte, indice caseinico e percentuale di lattosio e una diminuzione lineare del grasso del latte e della conducibilità del latte. Di conseguenza, il dato di DSCC è stato favorevolmente associato a tutti i caratteri tecnologici. Il dato di DSCC è risultato inoltre positivamente associato al recupero dei nutrienti (proteina, grasso ed energia) del latte nella cagliata. Infine, un risultato interessante di questo studio ha riguardato la quantità di macrofagi del latte, calcolata come $100 - \text{DSCC} (\%)$ e moltiplicata per il contenuto di SCC. Questa variabile quantitativa sembra essere associata al peggioramento delle caratteristiche casearie in maniera più marcata di quella relativa al dato quantitativo di PMN-LYM. Dalla figura 1 sottostante si nota infatti che il contenuto di macrofagi nel latte (MAC), espresso in forma quantitativa, mostra un maggiore impatto sull'allungamento del tempo di coagulazione e sul peggioramento generale della dinamica di coagulazione rispetto a quello della sommatoria di neutrofili polimorfonucleati e linfociti (PMN-LYM).

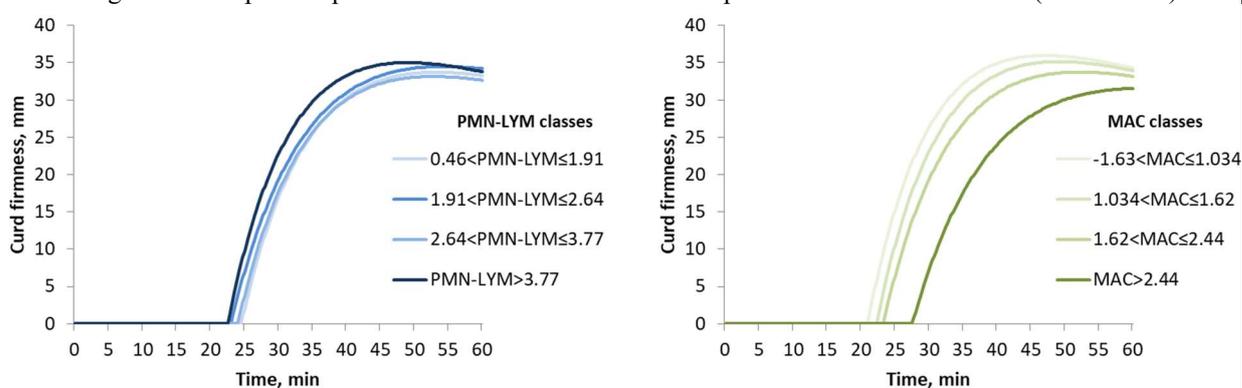


Figura 1. Pattern di coagulazione del latte (tempo di coagulazione [time, asse delle x] e consistenza del coagulo [curd firmness, asse delle y]) suddiviso per classi di neutrofili polimorfonucleati e linfociti (PMN-LYM) e macrofagi (MAC) calcolati come $\text{PMN-LYM count} = \text{DSCC} (\%) \times \text{SCC log}$ e $\text{MAC count} = (100 - \text{DSCC}, \%) \times \text{SCC log}$ (Pegolo et al., 2021). I valori delle classi di MPN-LYM e MAC count sono espressi su scala logaritmica.

Concludendo, possiamo quindi affermare che il dato delle DSCC, sia se espresso in forma qualitativa, ma ancor meglio se in forma quantitativa, può essere un buon indicatore da abbinare al ben noto dato di SCS per il monitoraggio delle caratteristiche qualitative e casearie del latte di bovine di razza Frisona.

2) Parametri genetici relative alle cellule somatiche differenziali, composizione e caratteristiche tecnologiche del latte stimati utilizzando dati spettrali MIR in bovini di razza Frisona

Lo scopo di questo secondo lavoro scientifico è stato quello di studiare la variabilità genetica della conta differenziale delle cellule somatiche (DSCC) nel latte e approfondire i legami genetici che intercorrono tra DSCC, i caratteri produttivi, i caratteri qualitativi e le caratteristiche tecnologiche e casearie del latte di bovine di razza Frisona.

Per il raggiungimento di questo obiettivo sono stati considerati i record di 2,488 bovine di razza Frisona allevate in 36 allevamenti dislocati nel nord Italia. Al fine di ottimizzare i dati raccolti all'interno del progetto LATSAN e massimizzare la potenza statistica del test, si è proceduto attraverso un processo di *data integration* con database precedentemente raccolti in altri progetti di ricerca. Attraverso l'uso della spettroscopia nel medio infrarosso (*Fourier-transform infrared spectroscopy*, FTIR) è stato possibile predire il dato relativo alle proprietà di coagulazione del latte e di resa casearia per i campioni di latte in cui era stato stoccato lo spettro FTIR, ma non era stata eseguita l'analisi lattodinamografica con metodica gold standard.

I dati di DSCC e di tutte le variabili oggetto di studio sono stati analizzati attraverso un *animal model* Bayesiano che ha considerato i dati di pedigree (~ 6,000 record) di tutte le 2,500 bovine fenotizzate. Per la stima delle correlazioni genetiche (e ambientali) tale modello è stato implementato in una versione multivariata dove tutte le variabili relative alla funzionalità della ghiandola mammaria (SCC, DSCC e relativi parametri quantitativi) sono state messe in correlazione con le variabili di qualità del latte. Le stime di ereditabilità per i caratteri di infiammazione mammaria variavano da 0.10 a 0.13, quindi valori mediamente bassi e in linea con quanto già riportato in letteratura.

Le stime di correlazione genetica additiva tra SCS e composizione del latte sono risultate moderate e sfavorevoli. Le cellule somatiche, inoltre, hanno presentato correlazioni genetiche di -0.30 con la percentuale di proteina del latte, -0.56 con la percentuale di lattosio e -0.52 con l'indice caseinico. Per quanto concerne i caratteri tecnologici, le SCS hanno mostrato correlazioni genetiche di +0.38 con il tempo di rassodamento (k_{20}), +0.45 con il tempo di coagulazione (*Rennet Coagulation Time*, RCT) e -0.40 con la consistenza finale del coagulo a 30 min (a_{30}). Tutti i pattern sfavorevoli relativi all'effetto delle DSCC sulla qualità del latte sono stati confermati anche dalle correlazioni negative con le variabili di resa casearia calcolata a livello individuale, a dimostrazione del fatto che un peggioramento della funzionalità della ghiandola mammaria è accompagnato, anche da un punto di vista genetico, ad un deterioramento della qualità tecnologica del latte.

Tabella 1a. Stime di ereditabilità di tutti caratteri oggetto di studio

+

Tabella 1a. Stime di ereditabilità di tutti caratteri oggetto di studio

Item	Variances			h^2		$h_{\text{herd-date}}$	
	σ_a^2	σ_{hd}^2	σ_e^2	Mean	HPD95	Mean	HPD95
Milk yield, kg/d	12.77	21.09	32.82	0.27	0.17 – 0.39	0.31	0.20 – 0.42
Milk composition							
Fat, %	0.07	0.06	0.45	0.13	0.03 – 0.21	0.11	0.06 – 0.17
Protein, %	0.03	0.009	0.07	0.33	0.19 – 0.47	0.05	0.05 – 0.13
Casein, %	0.02	0.009	0.04	0.31	0.18 – 0.44	0.13	0.06 – 0.18
Fat:protein	0.008	0.009	0.04	0.17	0.09 – 0.20	0.16	0.09 – 0.22
Urea, mg/100g	5.56	9.39	13.39	0.29	0.15 – 0.44	0.33	0.20 – 0.59
Udder health							
SCS	0.42	0.14	2.76	0.13	0.03 – 0.23	0.04	0.01 – 0.08
DSCC	26.55	2.09	208.57	0.11	0.01 – 0.24	0.01	0.00 – 0.03
logPMN-LYM count	0.32	0.05	2.81	0.10	0.03 – 0.21	0.02	0.00 – 0.04
logMAC count	0.15	0.02	1.25	0.11	0.01 – 0.23	0.01	0.00 – 0.04
Lactose, %	0.008	0.009	0.024	0.25	0.11 – 0.32	0.22	0.12 – 0.38
Casein index, %	0.78	2.86	2.83	0.23	0.11 – 0.31	0.42	0.31 – 0.56
pH	0.0015	0.0027	0.0041	0.27	0.10 – 0.34	0.32	0.20 – 0.43
Milk conductivity, mS	0.097	0.091	0.227	0.30	0.16 – 0.40	0.22	0.09 – 0.36
Individual FA, g/100 g milk							
14:0	0.002	0.004	0.003	0.454	0.26 – 0.63	0.406	0.25 – 0.60
16:0	0.015	0.023	0.027	0.362	0.19 – 0.50	0.337	0.14 – 0.53
18:0	0.001	0.004	0.006	0.179	0.01 – 0.28	0.354	0.17 – 0.57
18:1	0.009	0.007	0.022	0.294	0.10 – 0.45	0.174	0.05 – 0.33
FA groups, g/100g milk							
SFA	0.101	0.075	0.113	0.465	0.28 – 0.62	0.249	0.10 – 0.43
MUFA	0.008	0.011	0.022	0.274	0.06 – 0.46	0.247	0.08 – 0.43
PUFA	0.0001	0.0002	0.0003	0.292	0.11 – 0.47	0.333	0.16 – 0.54
SCFA	0.0024	0.0017	0.0026	0.479	0.27 – 0.62	0.243	0.09 – 0.40
MCFA	0.035	0.049	0.052	0.399	0.21 – 0.55	0.345	0.16 – 0.53
LCFA	0.020	0.025	0.051	0.282	0.08 – 0.44	0.253	0.10 – 0.46
TFA	0.0003	0.0008	0.0004	0.371	0.11 – 0.66	0.490	0.28 – 0.71

SCS = $\log_2(\text{SCC}/100,000) + 3$; logPMN-LYM count = polymorphonuclear neutrophils-lymphocytes count expressed as $\log_2(\text{PMN-LYM count}/100,000) + 3$; logMAC count = macrophages count expressed as $\log_2(\text{MAC count}/100,000) + 3$; FA= fatty acids SFA: saturated fatty acids; MUFA=monounsaturated fatty acids; PUFA= polyunsaturated fatty acids; SCFA= short-chain fatty acids; MCFA= medium-chain fatty acids; LCFA=long-chain fatty acids; TFA: trans fatty acids

Estimates are expressed as mean of the marginal posterior density of the parameter; σ_a^2 = additive genetic variance, σ_{hd}^2 = herd-date variance, σ_e^2 = residual variance, h^2 = heritability computed as $\sigma_a^2/(\sigma_a^2 + \sigma_e^2)$, herd incidence computed as $h_{\text{herd-date}} = \sigma_{\text{hd}}^2/(\sigma_a^2 + \sigma_{\text{hd}}^2 + \sigma_e^2)$

HPD95: lower and upper bound of the 95% highest posterior density region.

Largo Gemelli 1, Milano

Tabella 1b. Stime di ereditabilità di tutti caratteri oggetto di studio

Item	Variances			h^2		$h_{herd-date}$	
	σ_a^2	σ_{hd}^2	σ_e^2	Mean	HPD95	Mean	HPD95
Traditional MCP							
RCT, min	8.47	9.09	23.96	0.26	0.13 – 0.39	0.22	0.15 – 0.27
k_{20} , min	1.73	2.23	7.18	0.20	0.08 – 0.31	0.20	0.13 – 0.28
a_{30} , min	24.39	35.00	115.45	0.17	0.06 – 0.29	0.20	0.14 – 0.24
Curd firming							
RCT_{ren} , min	7.69	8.74	28.32	0.21	0.10 – 0.33	0.19	0.13 – 0.26
CF_{FP} , mm	42.49	70.27	108.96	0.28	0.16 – 0.39	0.31	0.23 – 0.38
k_{CF} , % \times min ⁻¹	1.06	1.25	5.26	0.17	0.07 – 0.31	0.16	0.10 – 0.24
k_{SR} , % \times min ⁻¹	0.025	0.022	0.077	0.25	0.21 – 0.31	0.18	0.12 – 0.26
CF_{max} , min	21.63	50.09	60.39	0.26	0.16 – 0.38	0.38	0.30 – 0.43
t_{max} , min	15.21	10.30	45.54	0.24	0.11 – 0.38	0.24	0.09 – 0.19
Cheese yields (CY), %							
%CY _{CURD}	1.43	2.78	4.29	0.25	0.18 – 0.34	0.32	0.24 – 0.40
%CY _{SOLIDS}	0.17	0.11	0.37	0.31	0.19 – 0.45	0.16	0.11 – 0.22
%CY _{WATER}	0.63	0.33	2.51	0.20	0.09 – 0.33	0.09	0.06 – 0.14
Recoveries (REC), %							
REC _{PROTEIN}	1.27	1.21	3.02	0.29	0.23 – 0.38	0.22	0.16 – 0.28
REC _{FAT}	10.27	19.13	47.72	0.18	0.11 – 0.26	0.24	0.18 – 0.31
REC _{SOLIDS}	2.80	2.52	9.68	0.22	0.13 – 0.34	0.17	0.11 – 0.23
REC _{ENERGY}	4.04	7.52	15.67	0.20	0.11 – 0.32	0.27	0.19 – 0.36

¹RCT = rennet coagulation time; k_{20} = curd firming rate as the time to a curd firmness of 20 mm; a_{30} = curd firmness at 30 min from rennet addition; RCT_{ren} = rennet coagulation time estimated using the equation; CF_{FP} = asymptotic potential curd firmness; k_{CF} = curd firming instant rate constant; k_{SR} = syneresis instant rate constant; CF_{max} = maximum curd firmness achieved within 45 min; t_{max} = time at achievement of CF_{max} ; %CY_{CURD} = weight of fresh curd as percentage of weight of milk processed; %CY_{SOLIDS} = weight of curd solids as percentage of weight of milk processed; %CY_{WATER} = weight of water curd as percentage of weight of milk processed; REC_{PROTEIN} = protein of the curd as percentage of the protein of the milk processed; REC_{FAT} = fat of the curd as percentage of the fat of the milk processed; REC_{SOLIDS} = solids of the curd as percentage of the solids of the milk processed; REC_{ENERGY} = energy of the curd as percentage of energy of the milk processed.

Estimates are expressed as mean of the marginal posterior density of the parameter; σ_a^2 = additive genetic variance, σ_{hd}^2 = herd-date variance, σ_e^2 = residual variance, h^2 = heritability computed as $\sigma_a^2 / (\sigma_a^2 + \sigma_{hd}^2 + \sigma_e^2)$, herd incidence computed as $h_{herd-date} = \frac{\sigma_{hd}^2}{\sigma_a^2 + \sigma_{hd}^2 + \sigma_e^2}$.

HPD95 = lower and upper bound of the 95% highest posterior density region, SD: posterior standard deviation

3) Associazione tra infiammazioni subcliniche qualità del latte, sanità della mammella e caratteristiche casearie misurate a livello di singolo quarto

In questo terzo studio abbiamo valutato le associazioni tra l'infezione intra-mammaria subclinica (IMI) e la composizione del latte, gli indicatori di salute della mammella e le caratteristiche tecnologiche del latte a livello di singolo quarto. Il set di dati includeva i record di 450 vacche Holstein appartenenti a tre allevamenti. Dopo uno screening iniziale (T0) per identificare animali infettati da *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Staphylococcus aureus* e *Prototheca* spp., sono stati utilizzati per l'analisi 613 campioni di singolo quarto raccolti a 2 diversi tempi di campionamento (T1 e T2, 1 mese dopo T1).

I caratteri investigati sono stati analizzati utilizzando un modello misto lineare gerarchico che includeva gli effetti dei giorni di lattazione, dell'ordine di parto, dell'allevamento e del batteriologico/stato infiammatorio [negativo con conta di cellule somatiche (SCC) <200.000 cellule/mL; negativo con SCC \geq 200.000 cellule/mL; o positivo].

Tutti gli indicatori di salute della mammella sono stati associati ad un aumento di SCC e all'IMI ad entrambi i tempi di campionamento. Gli effetti più rilevanti sono stati evidenziati a T2 per il lattosio (-7% e -5%) e la conducibilità del latte

Largo Gemelli 1, Milano

(+9% e +8%). Al contrario, l'aumento della conta differenziale delle cellule somatiche (DSCC) nei campioni con SCC elevata era maggiore a T1 (+17%). I campioni negativi con $SCC \geq 200.000$ cellule/mL avevano SCC più alta ed un maggior numero di linfociti+neutrofili e macrofagi sia a T1 che a T2. Per quanto riguarda la capacità di coagulazione del latte, i campioni con SCC elevata hanno evidenziato un peggioramento generale della dinamica di coagulazione a T1 e T2 (Figura 1).

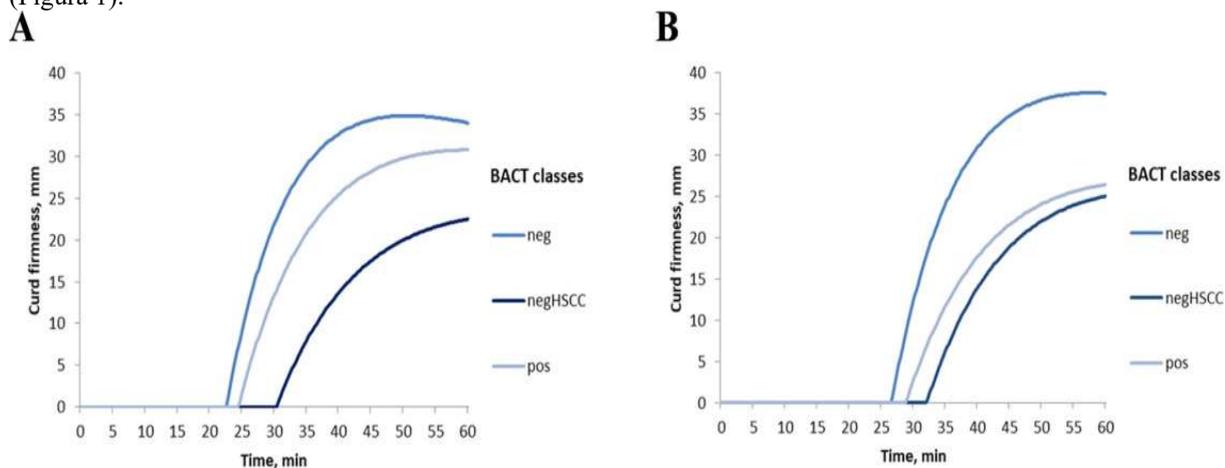


Figura 1. Pattern di coagulazione in funzione delle classi di batteriologico (BACT) al tempo (A) 1 e (B) 2. Le classi BACT sono state definite come segue: negativo all'esame batteriologico e con $SCC < 200.000$ cellule /ml (negativo); negativo all'esame batteriologico con $SCC \geq 200.000$ cellule/mL (negHSCC); e positivo all'esame batteriologico (pos).

A T2, l'aumento di SCC e IMI ha significativamente ridotto il recupero (REC) dei nutrienti nella cagliata, in particolare $REC_{PROTEIN}$ (-14% e -16%) e REC_{FAT} (-12% e -14%).

Strep. agalactiae e *Prototheca* spp. hanno inoltre mostrato un comportamento differente nei confronti dei caratteri studiati, in particolare al T2. In particolare, i campioni positivi per *Strep. agalactiae* presentavano percentuali più elevate di DSCC (+19%) rispetto ai campioni negativi con bassa SCC, mentre i campioni positivi per *Prototheca* spp. avevano DSCC inferiore (-11%). L'infezione intramammaria da *Prototheca* spp. ha indotto un aumento del pH del latte rispetto ai campioni negativi (+3%) e ai campioni negativi che avevano SCC elevata (+2%). La maggiore compromissione della compattezza della cagliata a 30 minuti (a30) è stata osservata per i campioni positivi per *Prototheca* spp. (-99% rispetto ai campioni negativi e -98% rispetto ai campioni negativi con SCC elevato). Questi risultati suggeriscono che l'IMI causata da *Prototheca* spp. ha un effetto negativo sulle caratteristiche tecnologiche del latte che merita ulteriori indagini per comprendere i meccanismi alla base della risposta degli animali alle infezioni.

4) *Streptococcus agalactiae* and *Prototheca* spp causano una risposta a livello leucocitario nella mammella di Bovini Frisona

In questo quarto studio sono state valutate le associazioni tra infezioni intramammarie (IMI) spontanee e subcliniche causate da *Streptococcus agalactiae* e *Prototheca* spp. e le diverse popolazioni leucocitarie della mammella valutate con tecnica citofluorimetrica a flusso nelle bovine da latte di razza Holstein Freisian. Dopo un iniziale screening (T0) di 188 animali e una seconda rivalutazione (T1) effettuata due settimane dopo per confermare lo status batteriologico dei soggetti, sono state prelevati campioni di latte da 47 animali. Su questi campioni sono state effettuate analisi di composizione del latte, conta delle cellule somatiche (SCS) e conta differenziale delle cellule somatiche (DSCC) e l'analisi citofluorimetrica.

Lo studio ha evidenziato come lo stato batteriologico, definito in soggetti negativi, positivi *Streptococcus agalactiae* o positivi a *Prototheca*, ha influenzato significativamente i caratteri di interesse (Figura 1).

Largo Gemelli 1, Milano

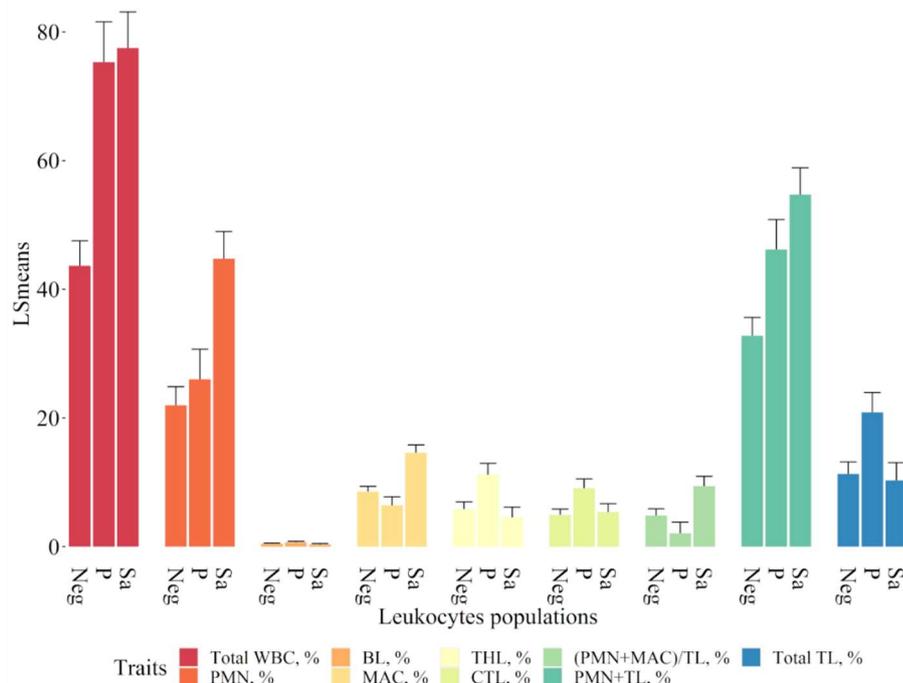


Figura 1. Medie stimate (least square means) delle popolazioni leucocitarie in base allo stato batteriologico. Neg: campioni negativi al batteriologico; Sa+: campioni positivi a *Streptococcus agalactiae* al batteriologico; P+: campioni positivi a *Prototheca* al batteriologico. WBC: leucociti totali; BL: linfociti B; THL, linfociti T-helper; CTL: linfociti T citotossici; TL: linfociti T totali; MAC: macrofagi.

In particolare, i soggetti risultati positivi a *Streptococcus agalactiae* o *Prototheca*, mostravano sempre livelli più elevati di SCS (+61% e +49%, rispettivamente), DSCC (+4% e +19%, rispettivamente), polimorfonucleati (PMN)-linfociti (LYM; +59% and +71%, rispettivamente), and macrofagi (MAC; +63% e +72%, rispettivamente) se comparati ai soggetti negativi all'esame culturale. Inoltre, l'analisi citofluorimetrica ha confermato che la mastite aumenta proporzione di polimorfonucleati nella conta delle cellule somatiche, soprattutto nelle infezioni da *Streptococcus agalactiae* (+51%), rispetto a quanto accade nei soggetti negativi. Per quanto riguarda la percentuale di macrofagi, i due patogeni mostravano un comportamento opposto: la presenza di *Streptococcus agalactiae* faceva aumentare i macrofagi del 41%; al contrario, con l'infezione causata da *Prototheca*, diminuivano del 25%. Anche la distribuzione dei linfocitisi mostrava fortemente aumentata nelle mastiti da *Prototheca*, con un aumento dei linfociti T totali (TL) e T-helper dell'87 e 83%, rispettivamente. A conferma di questi risultati, anche il rapporto (PMN+MAC)/TL era significativamente aumentato nelle infezioni da *Streptococcus agalactiae* (+95%) e invece ridotto nelle infezioni da *Prototheca* (-43%) rispetto ai campioni negativi all'esame culturale.

Per concludere, lo studio ha messo in luce la prevalenza di una infiammazione cronica con risposta immunitaria adattiva infezioni da *Prototheca*, mentre nelle infezioni da *Streptococcus agalactiae* prevale la risposta immunitaria innata. Queste informazioni permettono di aumentare il grado di conoscenza riguardo i meccanismi di risposta immunitaria nelle mastiti subcliniche al fine di sviluppare tecniche diagnostiche e terapie più mirate ed efficaci negli allevamenti.

5) Impatto delle cellule somatiche differenziali e totali sulla frazione proteica del latte

Il quinto lavoro si è posto l'obiettivo di andare a valutare l'associazione tra due importanti indicatori di salute della ghiandola mammaria - la conta delle cellule somatiche (SCC) e la conta delle cellule somatiche differenziali (DSCC)- e il profilo proteico del latte in 1,482 bovine di razza Frisone.

Largo Gemelli 1, Milano

Lo stato di salute della ghiandola mammaria è da sempre un fattore fondamentale da tenere in considerazione per una più efficiente produttività e una qualità di latte superiore, il che risulta essere particolarmente importante anche visto l'impatto economico del settore lattiero-caseario italiano. La SCC è ad oggi il più conosciuto e utilizzato indicatore per lo screening dello status di salute della ghiandola mammaria, a cui di recente è stato affiancato un altro indicatore, la DSCC, che rappresenta la proporzione combinata di cellule polimorfonucleate e linfociti (PMN-LYM) sul totale delle cellule somatiche (da cui si può calcolare la percentuale di macrofagi [MAC] come complemento a 100).

La volontà di investigare l'associazione tra questi due indicatori e il profilo proteico del latte nasce dal fatto che la quantità di proteina nel latte, e le diverse frazioni proteiche che la compongono, influenzano in maniera significativa non solo la qualità del latte stesso ma anche le sue caratteristiche tecnologiche e resa della caseificazione.

In questo studio, condotto su bovine clinicamente sane e allevate in condizioni igienico-sanitarie molto buone, sono state analizzate diverse frazioni proteiche tramite un metodo di HPLC a fase inversa, ed espresse in due modalità: sia come dato quantitativo (g/L) che qualitativo (% sull'azoto presente del latte).

Per esplorare l'associazione tra le variabili proteiche e i caratteri di salute e funzionalità della mammella è stato utilizzato un modello lineare misto, contenente come effetti fissi ordine di parto, stadio di lattazione, SCS (*Somatic cell score*, trasformata logaritmica di SCC) e DSCC, e come effetto random la data di campionamento. Un secondo modello statistico è stato poi considerato per valutare l'effetto delle DSCC da un punto di vista quantitativo, andando a moltiplicare la proporzione di PMN-LYM e MAC al contenuto di cellule somatiche, e successivamente facendo la trasformata logaritmica per una normale distribuzione dei dati.

I risultati dello studio hanno confermato un'associazione sfavorevole tra SCS e contenuto totale di caseina espressa a livello qualitativo (%N) ed in particolare nei confronti della β -caseina, e un'associazione positiva nei confronti delle diverse frazioni siero proteiche. Le DSCC invece hanno mostrato un andamento opposto a quanto osservato con SCC, sia per quanto riguarda le frazioni proteiche espresse come g/L che come % N.

I risultati ottenuti considerando le variabili DSCC da un punto di vista quantitativo (PMN-LYM e MAC), ci hanno permesso valutare qualora gli andamenti precedentemente osservati fossero confermati o meno.

La quantità combinata di PMN-LYM ha mostrato lo stesso trend osservato per le DSCC, anche se con significatività più contenute. Un risultato interessante ha riguardato invece la quantità dei MAC, che è risultata avere un maggiore impatto sulle variabili di interesse, mostrando un comportamento opposto a quanto osservato con PMN-LYM, in particolare riducendo il contenuto (g/L) e la proporzione (%N) di β -caseina, probabilmente legato ad un coinvolgimento dei MAC nell'attività proteolitica delle frazioni caseiniche, e aumentando il contenuto delle diverse frazioni siero proteiche (Figura 1).

Largo Gemelli 1, Milano

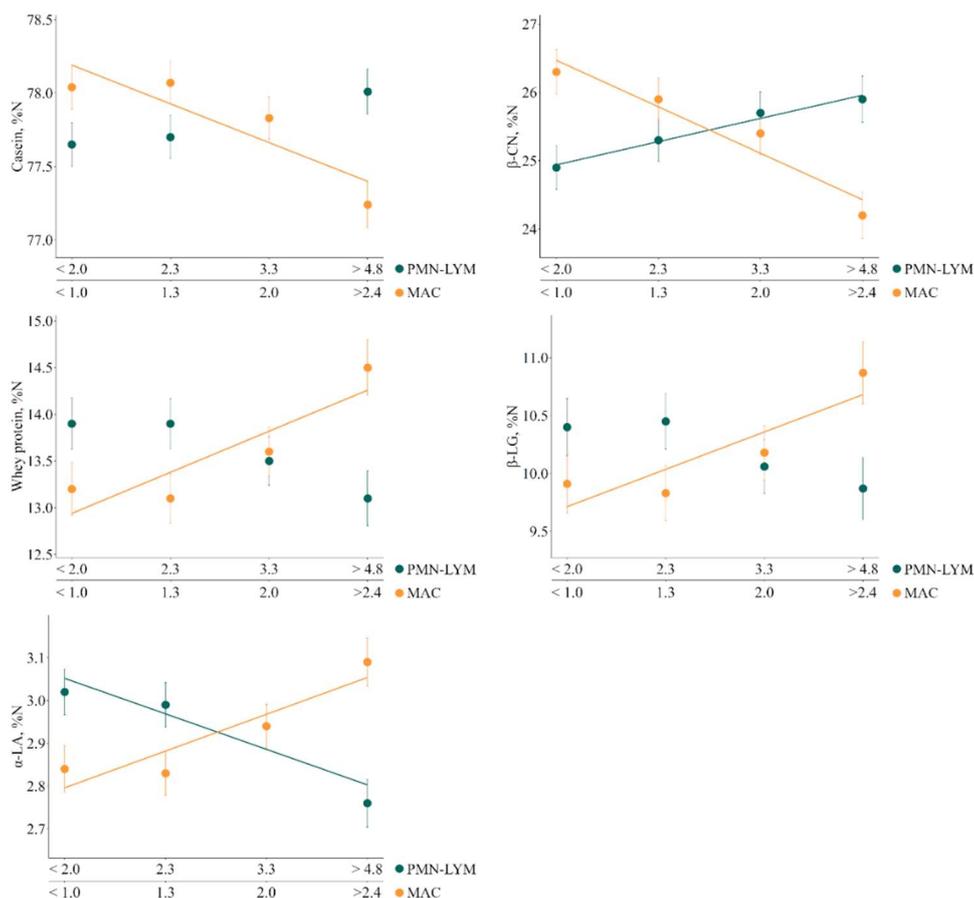


Figura 1

6) Impatto di alcune affezioni mastitiche sul profilo immuno-metabolico di bovine da latte frisone

L'ultimo aspetto valutato nel progetto è stato l'impatto della mastite sulla risposta sistemica della bovina da latte. Lo scopo è stato quello di verificare se tra le conseguenze di stati infiammatori localizzati nella mammella, supportati da differenti patogeni, vi fossero modificazioni relativamente al metabolismo, all'immunità innata ed allo stress ossidativo. Sono state dunque confrontati i livelli di vari indicatori ematici relativi ai predetti aspetti a partire dallo screening iniziale (T0), utilizzato per identificare animali infettati da *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Staphylococcus aureus* e *Prototheca* spp., e proseguendo nei due successivi tempi di monitoraggio (T1 e T2, 1 mese dopo T1). I dati sono stati elaborati distintamente nei tre allevamenti selezionati per la ricerca, per tener conto del possibile effetto dell'ambiente (ubicazione azienda, dieta, management), ma soprattutto per sorprendere differenze specifiche del patogeno prevalente individuato in ciascuna azienda. L'allevamento 1 (tab. 6.1) si è caratterizzato per la presenza di *Streptococcus agalactiae* e *Staphylococcus aureus*, l'allevamento 2 (tab. 6.2) per il patogeno *Streptococcus uberis* e il terzo allevamento (tab. 6.3) per la presenza di *Streptococcus agalactiae* e *Prototheca*.

Tabella 6.1 - Andamento dei parametri ematici in soggetti senza (negativi) o con (positivi) la presenza di infezione mammaria da *S. Agalactiae* e *S. Aureus*.

Largo Gemelli 1, Milano

Parametro	TEMPO GRUPPO	0		1		2	
		Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo
Glucosio	Media	3,94	3,94	4,07	4,04	4,26	4,27
mmol/L	Dev st	0,50	0,50	0,41	0,40	0,70	0,54
Colesterolo	Media	5,47	5,12	5,49	5,65	5,62	5,16
mmol/L	Dev st	1,22	0,87	1,17	0,98	1,85	0,89
Urea	Media	5,23	4,88	4,60	4,76	4,93	5,16
mmol/L	Dev st	0,89	1,54	0,96	1,14	1,12	0,94
Calcio	Media	2,51	2,48	2,48	2,48	2,42	2,34
mmol/L	Dev st	0,19	0,15	0,14	0,11	0,18	0,23
Fosforo	Media	1,88	1,69	1,94	1,78	1,84	1,77
mmol/L	Dev st	0,33	0,25	0,37	0,25	0,18	0,27
Magnesio	Media	1,02	1,04	0,96	0,98	1,00	1,09
mmol/L	Dev st	0,09	0,08	0,11	0,06	0,06	0,12
Sodio	Media	143,55	144,17	142,59	143,33	143,34	141,85
mmol/L	Dev st	3,25	3,85	2,48	2,12	5,22	2,80
Potassio	Media	4,28	4,20	4,07	4,10	4,09	3,87
mmol/L	Dev st	0,35	0,32	0,42	0,30	0,37	0,49
Cloro	Media	102,41	104,88	100,66	102,90	101,96	101,52
mmol/L	Dev st	3,36	3,08	2,42	2,36	3,74	1,71
Zinco	Media	11,32	10,63	10,64	10,92	10,61	9,85
mcmol/L	Dev st	2,38	1,62	2,68	1,42	1,66	1,80
Ceruloplasmina	Media	2,75	2,91	3,28	3,23	2,98	2,88
mcmol/L	Dev st	0,66	0,63	0,70	0,52	0,59	0,84
Aptoglobina	Media	0,34	0,36	0,72	0,77	0,34	0,33
g/L	Dev st	0,30	0,19	0,36	0,28	0,32	0,26
Proteine	Media	84,78	87,38	88,40	85,58	82,15	83,84
g/L	Dev st	7,14	5,23	6,51	3,92	11,15	6,44
Albumine	Media	36,87	36,16	35,91	36,04	35,70	36,36
g/L	Dev st	2,19	2,69	1,89	1,22	2,19	1,99
Globuline	Media	47,91	51,22	52,49	49,54	46,45	47,49
g/L	Dev st	7,19	6,94	7,23	4,08	9,44	5,64
GOT	Media	101,84	100,93	101,97	109,17	125,69	112,80
U/L	Dev st	20,51	22,19	15,64	17,87	50,13	22,81
GGT	Media	33,42	29,51	32,04	30,37	27,78	28,13
U/L	Dev st	19,15	10,20	14,60	7,41	3,10	7,31
Bilirubina Totale	Media	2,11	1,80	2,14	2,00	2,53	2,18
mcmol/L	Dev st	1,77	0,40	1,05	0,60	2,19	0,66
ALP	Media	54,29	51,56	59,39	53,58	60,51	58,28
U/L	Dev st	22,25	18,96	24,30	14,76	12,85	19,68
NEFA	Media	0,14	0,09	0,12	0,08	0,18	0,07
mmol/L	Dev st	0,21	0,04	0,15	0,04	0,30	0,03
BOHB	Media	0,68	0,67	0,70	0,76	0,91	0,65
mmol/L	Dev st	0,23	0,17	0,19	0,20	0,55	0,18
Creatinina	Media	85,58	82,01	83,02	77,25	82,30	74,34
mcmol/L	Dev st	10,04	10,41	10,98	5,91	9,17	10,19
MPO	Media	547,91	587,91	570,09	601,12	496,19	550,64
U/L	Dev st	78,66	72,65	106,93	44,14	69,89	69,86
AOPP	Media	45,50	45,39	47,66	42,41	40,30	41,18
mcmol/L	Dev st	11,08	5,93	15,04	6,84	7,87	5,89
SHp	Media	480,82	466,43	457,19	448,63	436,92	440,05
mcmol/L	Dev st	67,29	63,36	92,50	38,99	45,65	35,78
ROMt	Media	17,80	19,00	21,29	20,93	18,17	19,21
mg H2O2/100 ml	Dev st	3,73	3,04	3,98	2,48	4,42	3,77
FRAP	Media	152,55	150,72	157,22	170,54	152,46	154,16
mcmol/L	Dev st	19,08	16,87	15,17	69,71	18,18	25,67
Paraoxonasi	Media	98,69	93,83	92,83	96,43	95,62	92,48
U/L	Dev st	18,08	13,55	12,92	14,75	19,58	13,38

NOTE: NEFA = Acidi grassi non esterificati; BHB = betaidrossibutirrato; ROMt = Metaboliti Reattivi dell'Ossigeno; AOPP = Advanced Oxidation Protein Products; SHp = Gruppi Tiolici; FRAP = Ferric Reducing Antioxidant Power

Tabella 6.2 - Andamento dei parametri ematici in soggetti senza (negativi) o con (positivi) la presenza di infezione mammaria da Str. Ueberis.



Largo Gemelli 1, Milano

Parametro	TEMPO GRUPPO	0		1		2	
		Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo
Glucosio	Media	3,42	3,10	4,17	3,89	3,20	3,18
mmol/L	Dev st	0,53	0,40	0,47	0,21	0,52	0,54
Colesterolo	Media	6,25	5,58	6,30	5,54	5,47	5,63
mmol/L	Dev st	1,35	1,17	1,22	1,28	1,04	1,28
Urea	Media	4,93	3,98	4,02	3,41	5,03	5,15
mmol/L	Dev st	0,94	1,18	0,69	0,64	1,02	0,95
Calcio	Media	2,58	2,44	2,49	2,51	2,44	2,40
mmol/L	Dev st	0,13	0,09	0,16	0,10	0,10	0,11
Fosforo	Media	1,91	1,87	2,27	2,16	2,13	2,06
mmol/L	Dev st	0,29	0,38	0,18	0,17	0,10	0,22
Magnesio	Media	1,01	0,98	1,03	1,03	0,93	0,96
mmol/L	Dev st	0,07	0,06	0,10	0,07	0,10	0,10
Sodio	Media	148,13	141,73	144,56	143,22	143,05	141,50
mmol/L	Dev st	3,76	4,16	2,56	1,39	2,26	2,10
Potassio	Media	4,66	4,41	4,28	4,31	4,19	3,97
mmol/L	Dev st	0,37	0,48	0,49	0,27	0,59	0,58
Cloro	Media	104,82	100,15	101,82	102,64	102,35	102,28
mmol/L	Dev st	2,74	2,65	4,32	2,17	2,92	1,97
Zinco	Media	15,90	14,30	12,78	12,20	13,63	13,43
mcmol/L	Dev st	3,27	2,83	2,35	1,97	3,45	2,46
Ceruloplasmina	Media	2,48	2,02	1,52	2,01	1,81	2,08
mcmol/L	Dev st	0,66	0,54	0,37	0,43	0,45	0,24
Aptoglobina	Media	0,24	0,25	0,21	0,23	0,32	0,28
g/L	Dev st	0,18	0,05	0,07	0,03	0,19	0,09
Proteine	Media	83,85	82,67	77,54	81,83	78,80	83,88
g/L	Dev st	3,92	5,24	3,45	5,09	4,38	4,07
Albumine	Media	36,78	36,57	35,80	36,01	35,74	35,83
g/L	Dev st	1,99	1,91	1,56	1,58	1,06	1,42
Globuline	Media	47,07	46,09	41,74	45,83	43,06	48,05
g/L	Dev st	4,41	5,91	3,31	5,28	3,66	4,95
GOT	Media	110,34	142,91	147,80	137,86	152,69	128,05
U/L	Dev st	31,98	33,21	34,09	38,36	23,96	33,98
GGT	Media	30,47	37,42	34,93	35,58	35,18	36,49
U/L	Dev st	7,02	9,66	9,29	8,91	9,96	9,03
Bilirubina Totale	Media	1,69	3,34	1,87	2,11	2,44	2,44
mcmol/L	Dev st	0,98	2,91	0,55	0,67	0,86	0,92
ALP	Media	53,12	37,79	55,52	37,07	63,98	43,25
U/L	Dev st	18,30	7,16	16,37	9,48	10,53	8,84
NEFA	Media	0,18	0,31	0,07	0,07	0,11	0,09
mmol/L	Dev st	0,11	0,37	0,04	0,05	0,10	0,06
BOHB	Media	0,44	0,53	0,47	0,56	0,47	0,50
mmol/L	Dev st	0,11	0,11	0,16	0,09	0,10	0,12
Creatinina	Media	85,33	86,89	82,71	86,06	90,61	92,52
mcmol/L	Dev st	5,88	7,96	4,93	8,03	7,40	7,24
MPO	Media	523,21	593,02	473,24	570,16	584,69	619,74
U/L	Dev st	72,93	120,19	55,07	71,19	57,14	100,27
AOPP	Media	64,78	48,73	47,24	45,21	45,63	49,31
mcmol/L	Dev st	16,72	15,62	12,67	7,76	7,37	11,00
SHp	Media	662,44	499,26	451,33	456,07	448,85	491,40
mcmol/L	Dev st	130,52	59,79	147,94	54,61	62,68	62,12
ROMt	Media	15,23	14,99	12,35	14,31	14,04	15,03
mg H2O2/100 ml	Dev st	2,54	2,24	2,02	2,54	2,71	1,15
FRAP	Media	147,95	137,76	153,08	146,15	136,71	131,66
mcmol/L	Dev st	20,06	26,84	13,49	21,36	28,90	20,00
Paraoxonasi	Media	86,47	95,92	92,60	94,94	87,96	97,01
U/L	Dev st	18,40	21,20	14,62	22,85	17,31	19,24

NOTE: NEFA = Acidi grassi non esterificati; BHB = betadrossibutirrato; ROMt = Metaboliti Reattivi dell'Ossigeno; AOPP = Advanced Oxidation Protein Products; SHp = Gruppi Tioili; FRAP = Ferric Reducing Antioxidant Power

Largo Gemelli 1, Milano

Tabella 6.3 - Andamento dei parametri ematici in soggetti senza (negativi) o con (positivi) la presenza di infezione mammaria da *S. Agalactiae* e *Prototheca*.

Parametro	TEMPO	0		1		2	
	GRUPPO	negativo	positivo	negativo	positivo	negativo	positivo
Glucosio	Media	3,59	3,74	4,03	4,06	4,54	4,77
mmol/L	Dev st	0,35	0,42	0,44	0,47	0,43	0,46
Colesterolo	Media	5,28	5,12	4,75	5,04	4,88	5,02
mmol/L	Dev st	1,29	1,36	1,12	1,15	1,17	1,11
Urea	Media	4,73	4,83	4,10	5,39	3,85	5,53
mmol/L	Dev st	0,77	0,99	0,90	1,19	0,66	0,98
Calcio	Media	2,45	2,47	2,54	2,56	2,51	2,48
mmol/L	Dev st	0,14	0,23	0,21	0,23	0,28	0,27
Fosforo	Media	2,02	1,98	1,89	2,06	1,95	2,08
mmol/L	Dev st	0,26	0,33	0,30	0,38	0,35	0,46
Magnesio	Media	1,07	1,08	1,01	1,06	1,04	1,12
mmol/L	Dev st	0,09	0,13	0,13	0,14	0,10	0,15
Sodio	Media	147,72	147,82	146,25	146,30	146,17	146,70
mmol/L	Dev st	2,73	5,50	6,40	7,20	7,02	6,37
Potassio	Media	4,45	4,35	4,12	4,25	4,25	4,37
mmol/L	Dev st	0,29	0,39	0,38	0,45	0,45	0,42
Cloro	Media	104,79	105,51	103,93	104,49	104,99	105,53
mmol/L	Dev st	2,49	5,25	6,27	6,14	7,00	5,78
Zinco	Media	12,00	14,53	11,92	13,69	11,94	14,59
mcmol/L	Dev st	5,18	4,16	2,16	2,70	2,18	3,20
Ceruloplasmina	Media	3,16	3,23	3,12	3,26	3,53	3,13
mcmol/L	Dev st	0,73	0,75	0,67	0,66	0,70	0,67
Aptoglobina	Media	0,24	0,36	0,33	0,40	0,49	0,36
g/L	Dev st	0,24	0,31	0,22	0,32	0,32	0,27
Proteine	Media	84,63	88,75	87,38	90,42	90,85	89,20
g/L	Dev st	5,29	7,74	5,73	8,13	6,14	9,09
Albumine	Media	37,16	36,77	34,36	36,27	33,87	36,38
g/L	Dev st	2,06	3,36	3,47	4,03	4,08	3,46
Globuline	Media	47,46	51,98	53,01	54,15	56,98	52,81
g/L	Dev st	6,12	7,54	4,21	8,56	5,39	9,36
GOT	Media	127,80	128,73	112,47	118,97	115,24	112,13
U/L	Dev st	33,06	38,28	29,57	32,56	19,52	27,17
GGT	Media	37,79	34,34	30,48	35,16	29,79	33,07
U/L	Dev st	37,30	13,29	6,18	13,44	6,08	7,95
Bilirubina Totale	Media	1,18	1,93	2,28	1,87	2,39	1,53
mcmol/L	Dev st	0,92	1,77	0,90	0,83	0,56	0,61
ALP	Media	54,77	50,64	50,06	52,98	57,00	55,97
U/L	Dev st	16,64	12,27	21,03	11,91	21,38	12,35
NEFA	Media	0,16	0,17	0,17	0,10	0,20	0,09
mmol/L	Dev st	0,09	0,14	0,10	0,07	0,13	0,05
BOHB	Media	0,54	0,53	0,49	0,55	0,35	0,43
mmol/L	Dev st	0,13	0,11	0,13	0,13	0,11	0,12
Creatinina	Media	87,39	89,46	80,30	90,12	78,58	88,62
mcmol/L	Dev st	5,89	10,13	11,15	11,91	15,59	10,91
MPO	Media	515,42	532,75	509,26	486,81	516,62	511,64
U/L	Dev st	104,08	109,56	46,11	68,25	55,46	113,37
AOPP	Media	55,60	76,99	63,66	73,86	72,51	75,50
mcmol/L	Dev st	25,13	30,89	9,96	15,56	19,14	25,87
Shp	Media	407,09	516,95	448,67	517,63	475,63	538,30
mcmol/L	Dev st	120,11	158,43	56,95	93,72	97,51	145,23
ROMt	Media	13,75	19,26	20,63	21,20	22,57	20,92
mg H2O2/100 ml	Dev st	3,49	3,97	2,73	3,29	3,01	3,65
FRAP	Media	181,57	176,09	154,30	162,14	159,26	158,63
mcmol/L	Dev st	30,75	30,77	17,59	20,23	23,74	27,42
Paraoxonasi	Media	88,51	95,97	102,09	97,19	97,05	98,02
U/L	Dev st	19,37	23,91	25,21	20,10	21,29	17,87

NOTE: NEFA = Acidi grassi non esterificati; BHB = betaidrossibutirrato; ROMt = Metaboliti Reattivi dell'Ossigeno; AOPP = Advanced Oxidation Protein Products; Shp = Gruppi Tiolici; FRAP = Ferric Reducing Antioxidant Power

Largo Gemelli 1, Milano

Dall'esame dei dati ematici non emergono differenze degne di nota nel caso l'affezione mammaria fosse causata da *S. Agalactiae* e *S. Aureus* (Tab. 6.1) o *S. Agalactiae* e *Prototheca* (Tab. 6.3). Nel primo caso si è infatti osservato solo la tendenza al rialzo del Cloro in T0 e T1; mentre nel secondo caso al T0 si evidenzia un lieve aumento dello stato infiammatorio (denunciato dal rialzo dell'aptoglobina) e dello stato infiammatorio (deciso aumento dei Metaboliti Reattivi dell'Ossigeno o ROM e delle Proteine ossidate o AOPP).

Con l'infezione provocata da *Str. Uberis* (tab. 6.2) invece, le modificazioni ematochimiche sono risultate molto più marcate ed, in diversi casi, si sono protratte anche ai tempi successivi. In particolare, le bovine positive allo *Str. Uberis* hanno mostrato livelli di colesterolemia e uremia più bassi, e di NEFA (indice della mobilizzazione delle riserve lipidiche), in probabile associazione ad un livello di ingestione più basso e prolungato nel tempo. Anche le concentrazioni di fosfatasi alcalina (ALP) e mieloperossidasi (MPO) sono risultate a tutti i tempi rispettivamente più basse e più alte nei soggetti con questa affezione. Sulle variazioni di ALP è difficile pronunciarsi, mentre l'aumento della MPO denuncia una maggiore sollecitazione dei meccanismi fagocitari. Al T0 emergono altre differenze di rilievo a livello del metabolismo minerale (abbassamento del calcio, del cloro e del sodio), del metabolismo epatico (innalzamento delle transaminasi GOT e GGT) e dello stato ossidativo (calo dei gruppi tiolici che sono un indice del livello di glutazione).

Nel complesso questi dati segnalano la difficoltà di identificare gli effetti sistemici in presenza di fenomeni mastitici a differenti stadi di evoluzione delle affezioni. Solo la presenza del *Str. Uberis* mostra marcati e prolungati effetti, probabilmente per la sua persistenza in mammella e, perché, spesso le forme acute si accompagnano a rialzi termici sintomo della circolazione di mediatori sistemici di tale affezione.

SPAZIO RISERVATO ALL'ESPERTO (qualora designato)

Osservazioni alla relazione tecnico-scientifica

Obiettivi, benefici e criticità del progetto

SPAZIO RISERVATO AL COORDINATORE DEL PROGETTO

Descrizione degli obiettivi del progetto

Obiettivi generali	Obiettivi specifici	Linee di attività in WP	Risultati attesi	Risultati raggiunti <i>(Se il risultato atteso non è stato raggiunto specificare la motivazione nel campo note)</i>
a. Apportare un nuovo contributo alla comprensione dei complessi meccanismi fenotipici, genomici e trascrittomici alla base	1. Studio e caratterizzazione di parametri dettagliati di qualità nutrizionale e tecnologica del latte con particolare riferimento al profilo proteico del latte di gruppi di animali selezionati	<ul style="list-style-type: none"> WP 1. Gestione del progetto e della partnership WP 2. Piano sperimentale WP 3. Determinazione 	1) Ottimizzazione della comunicazione tra tutti i partecipanti al progetto allo scopo di monitorare l'avanzamento del progetto stesso, eventuali criticità e possibili strategie correttive	Relativamente ai WP1, WP2 e WP3 tutti gli obiettivi di progetto sono stati raggiunti, anche grazie alla proroga ottenuta a seguito dei ritardi causati dalle restrizioni per il contenimento della pandemia COVID 19

Largo Gemelli 1, Milano

<p>della mastite e delle relazioni tra benessere animale, gestione aziendale, gestione del farmaco e resistenza antibiotica.</p>	<p>in base allo stato sanitario e produttivo (sano, latente, acuto, cronico)</p>	<p>nuovi fenotipi qualità</p>	<p>2) Definizione dei gruppi sperimentali sulla base della risposta all'infezione da mastite</p> <p>3) Identificazione degli effetti del tipo di contaminazione batterica e del grado di infezione sulle caratteristiche qualitative e sensoriali del formaggio</p> <p>4) Comprensione degli effetti esercitati dai rapporti quantitativi tra le diverse frazioni proteiche, in particolare caseiniche, presenti nel latte bovino sulla resa casearia</p> <p>5) Possibilità, per l'industria di trasformazione, di definire sistemi di pagamento basati sui rapporti quantitativi relativi tra varianti genetiche delle latto-proteine presenti nel latte massale</p> <p>6) Possibilità, per il settore del miglioramento genetico animale, di dare risposta alla richiesta di interventi atti ad incrementare</p>	
	<p>1. Studio e caratterizzazione di parametri di sanità della mammella basati su indicatori ematici e del latte</p>	<ul style="list-style-type: none"> WP 4. Determinazione fenotipi sanità 	<ul style="list-style-type: none"> Identificazione di biomarcatori di sanità della mammella (oltre alla classica SCC) per rilevare gli animali infetti da mastite 	<ul style="list-style-type: none"> Obiettivo raggiunto <p>Sono stati identificati e messe a punto le procedure per la determinazione di alcuni marcatori di sanità nel latte e nel plasma di bovine con mastiti causate da differenti agenti eziologici. Risultati descritti nel punto 1 e 6 della relazione tecnica</p>
	<p>2. Studio e caratterizzazione degli effetti gestionali ed alimentari sugli indicatori di benessere animale e la salute della mammella</p>	<ul style="list-style-type: none"> WP4. Determinazione fenotipi qualità 	<ul style="list-style-type: none"> Possibile correlazione tra strategie di management aziendale e incidenza di patologie in allevamento 	<ul style="list-style-type: none"> Obiettivo raggiunto e descritto nel punto 3 e 6 della relazione tecnica



Largo Gemelli 1, Milano

	3. Studio del determinismo genetico della resistenza alle mastiti e relazioni genetiche tra tutti i caratteri di qualità, sanità della mammella e benessere	<ul style="list-style-type: none">• WP5. Stima dei parametri genetici per i caratteri qualità del latte e salute mammella	<ul style="list-style-type: none">• Possibilità di Inserire fenotipi legati alla qualità del latte e salute della mammella all'interno di indici per la selezione genetica nella vacca da latte.	<ul style="list-style-type: none">• Obiettivo raggiunto e descritto nel punto 1 della relazione tecnica
	4. Studio di associazione genome-wide sui biomarcatori di qualità del latte e salute della mammella	<ul style="list-style-type: none">• WP6. Analisi dei dati genomici	<ul style="list-style-type: none">• Identificazione di regioni genomiche associate a variazioni del livello di biomarcatori di qualità del latte e salute della mammella<ul style="list-style-type: none">• Possibilità di sfruttare le informazioni genomiche acquisite per il miglioramento delle caratteristiche casearie del latte e la resistenza alle mastiti della vacca da latte	<ul style="list-style-type: none">• Obiettivo raggiunto e descritto nel punto 1 della relazione tecnica
	Studio del profilo di antibiotico-resistenza nei quarti infetti da patogeni mammari (S. aureus, Str. agalactiae, M. bovis) tramite metodica della Minima Concentrazione Inibente (MIC)	<ul style="list-style-type: none">• WP7. Valutazione dell'antibiotico-resistenza di microrganismi patogeni causa di mastite e stesura di linee guida per un utilizzo appropriato del farmaco	<ul style="list-style-type: none">• Identificazione dei ceppi patogeni maggiormente resistenti agli antibiotici utilizzati per la mastite• Sviluppo di linee guida per un utilizzo più appropriato degli antibiotici e una riduzione del consumo di antibiotici per il trattamento della mastite bovina	<ul style="list-style-type: none">• Obiettivo raggiunto e descritto nel punto 3 della relazione tecnica
	6. Studio nei quarti infetti e quarti sani dello stesso individuo dei cambiamenti di rapporti delle diverse popolazioni leucocitarie, variazioni nel microbioma mammario, alterazioni nel profilo del trascrittoma mammario	<ul style="list-style-type: none">• WP8. Analisi funzionalità ghiandola mammaria	<ul style="list-style-type: none">• Identificazione di popolazioni batteriche in grado di ridurre l'incidenza di mastite• Identificazione di meccanismi molecolari responsabili della risposta fisiologica e cellulare della ghiandola mammaria alla mastite	<ul style="list-style-type: none">• Obiettivo raggiunto e descritto nel punto 5 della relazione tecnica
b. Sviluppare,	1. Sviluppo e Applicazione della tecnologia	<ul style="list-style-type: none">• WP9. Messa a punto di calibrazioni FTIR	<ul style="list-style-type: none">• Integrazione delle conoscenze scientifiche con la proposizione di	Obiettivo raggiunto e descritto nel punto 2 della relazione tecnica



Largo Gemelli 1, Milano

testare e validare strumenti per il rilievo di fenotipi innovativi e strumenti molecolari ad essi correlati.	FTIR (Fourier Transform Infra-red Spectroscopy) per la rilevazione di fenotipi indicatori di 'sanità' e 'qualità' del latte	per la rilevazione di fenotipi 'sanità' e 'qualità' del latte	strumenti innovativi da utilizzare nella pratica allo scopo di creare un sistema efficiente per la valutazione rapida, economica e applicabile su larga-scala dello stato di salute e di benessere dell'animale che integri la tradizionale SCC	
c. Disseminare i risultati scientifici ottenuti all'interno del progetto	1. Disseminazione dei risultati scientifici e trasferimento tecnologico	<ul style="list-style-type: none">WP10. Piano di sfruttamento dei risultati, ricadute e divulgazione dei risultati	<ul style="list-style-type: none">Accesso dei cittadini e dei vari operatori del settore alle nuove conoscenze e tecnologie disponibiliSuperamento delle barriere tecnico-scientificheAttivazione di reti settoriali (es. sviluppo banche dati)Formazione di laureandi e studenti di dottorato che contribuiranno al progetto	<ul style="list-style-type: none">Al momento pubblicati 5 lavori peer-reviewed su riviste scientifiche di settoreCoinvolti vari dottorandi, assegnisti di ricerca nelle attività sperimentaliI primi dati sviluppati dalla ricerca sono stati divulgati in seminari pubblici e nel corso di lezioni nei corsi di laurea nei due Atenei coinvolti nel progetto

NOTE

Gli Obiettivi previsti per il periodo intermedio di progetto di carattere analitico e legati alle elaborazioni statistiche dei risultati non sono ancora stati raggiunti causa le limitazioni imposte dalle vigenti misure di restrizione che impedito il completamento della fase di campionamento del materiale biologico.

.....

SPAZIO RISERVATO ALL'ESPERTO (qualora designato)

Osservazioni al raggiungimento degli obiettivi del progetto

Ostacoli occorsi ed azioni correttive messe in atto

Descrivere gli ostacoli occorsi durante la realizzazione delle attività del progetto indicando la linea di attività

Largo Gemelli 1, Milano

interessata, l'Unità operativa coinvolta e le azioni che sono state attivate al fine di rimuovere gli ostacoli che impedivano la realizzazione degli obiettivi.

Numero WP	Unità operative coinvolte	Ostacolo	Azioni correttive
1	UCSC-DIANA	Limitazioni imposte dalle misure di restrizione COVID 19	Richiesta e ottenuta proroga di 8 mesi che ha permesso il completamento del progetto e il raggiungimento degli obiettivi
SPAZIO RISERVATO ALL'ESPERTO (qualora designato)			
Osservazioni alle azioni correttive messe in atto			

Timbro dell'Ente proponente il progetto

Firma leggibile del Coordinatore del progetto

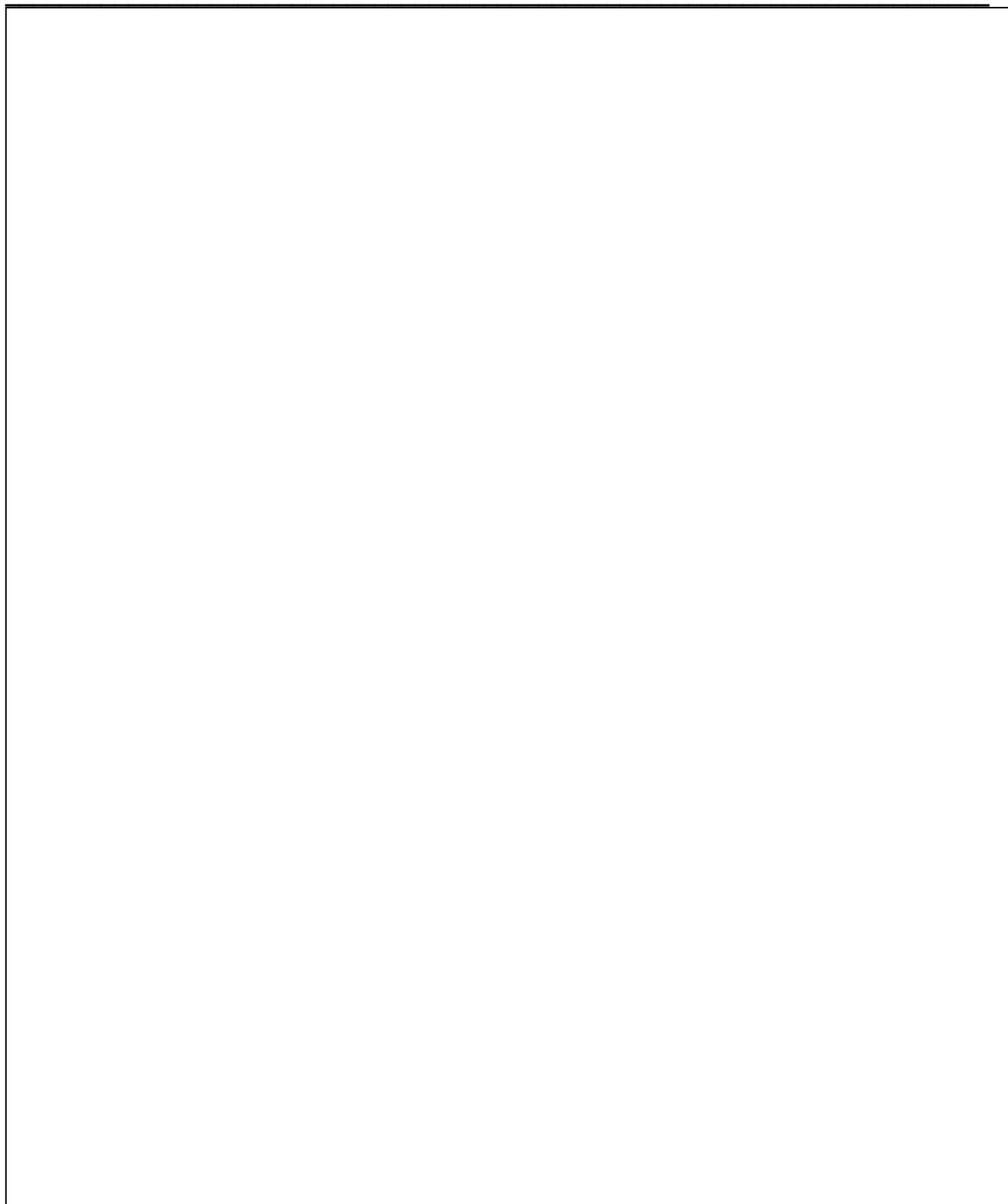



Largo Gemelli 1, Milano

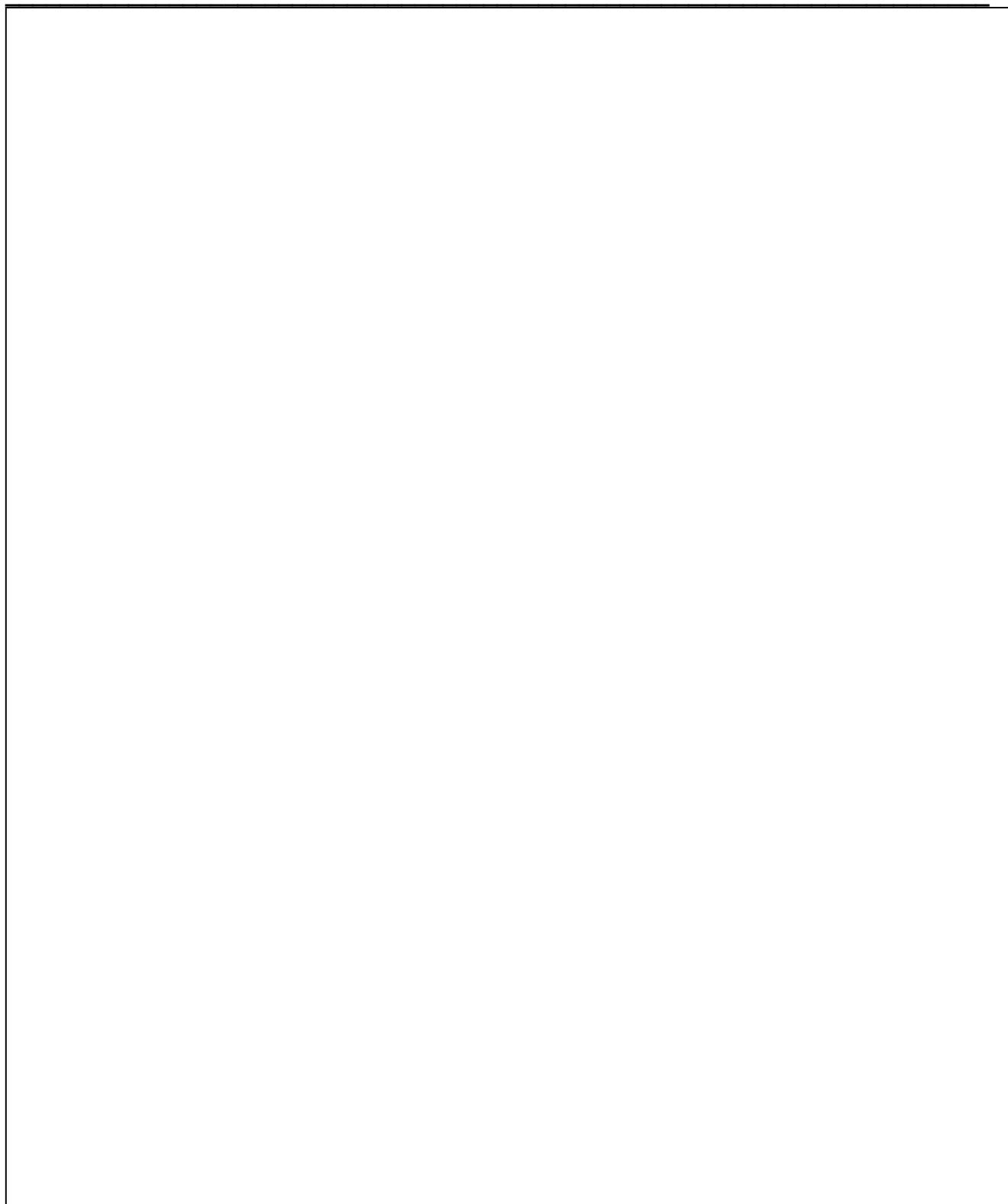
SPAZIO RISERVATO ALL'ESPERTO (qualora designato)

Valutazione complessiva del progetto

Largo Gemelli 1, Milano



Largo Gemelli 1, Milano





Largo Gemelli 1, Milano

Luogo e Data

Firma leggibile dell'Esperto (qualora designato)

¹te

Inserire una delle 6 aree prioritarie previste dal capitolo 2 del Piano Strategico per l'Innovazione e la ricerca nel settore agricolo alimentare e forestale (2014-2020), ovvero:

- Area 1 - Aumento sostenibile della produttività, della redditività e dell'efficienza delle risorse negli agro ecosistemi**
- Area 2 - Cambiamento climatico, biodiversità, funzionalità suoli e altri servizi ecologici e sociali dell'agricoltura**
- Area 3 - Coordinamento e integrazione dei processi di filiera e potenziamento del ruolo dell'agricoltura**
- Area 4 - Qualità, tipicità e sicurezza degli alimenti e stili di vita sani**
- Area 5 - Utilizzo sostenibile delle risorse biologiche a fini energetici ed industriali**
- Area 6 - Sviluppo e riorganizzazione del sistema della conoscenza per il settore agricolo, alimentare e forestale**
- Area 7 - Pesca e acquacoltura**

2 Inserire una delle seguenti linee di attività (previste dal Piano Strategico per l'Innovazione e la ricerca nel settore agricolo alimentare e forestale 2014-2020). La linea di attività da inserire dovrà corrispondere all'area strategica di intervento indicata nel precedente campo, ovvero per la:

Area 1 - Inserire una delle seguenti linee di attività:

- a. Scelte varietali, di razza, di destinazione d'uso, miglioramento genetico mediante l'utilizzo di biotecnologie sostenibili;
- b. Uso sostenibile dei nutrienti, dei prodotti fitosanitari e dei prodotti zooprofilattici, utilizzazione di microrganismi, insetti utili e molecole bioattive per la difesa delle piante;
- c. Ottimizzazione dei processi produttivi (tecnica colturale, alimentazione, benessere animale, pratiche di prevenzione, risparmio energetico, ecc.), anche mediante l'utilizzo di sistemi di supporto alle decisioni (telerilevamento, agricoltura e zootecnia di precisione, meccanizzazione integrale, robotica e altri sistemi automatici intelligenti, applicazione di principi e strumenti di intelligenza artificiale ecc.) e biotecnologie sostenibili;
- d. Soluzioni tecnologiche per il miglioramento degli impianti e delle strutture aziendali;
- e. Gestione efficiente della risorsa idrica e della qualità delle acque;
- f. Conservazione, conservabilità e condizionamento delle produzioni (riduzione degli sprechi, conservanti naturali ecc.);
- g. Strumenti e sistemi funzionali alla gestione aziendale (pianificazione, costi di produzione, diversificazione ecc.) e alla sua caratterizzazione (impronta ecologica).

Area 2 - Inserire una delle seguenti linee di attività:

- a. Strategie per la mitigazione e per lo studio dell'adattamento al cambiamento climatico;
- b. Valorizzazione delle varietà e razze locali e salvaguardia delle risorse genetiche;
- c. Tutela del fattore "suolo": conservazione, qualità, fertilità e salvaguardia della biodiversità microbica;
- d. Valorizzazione di alcuni servizi ecologici forniti dal settore primario: manutenzione e ripristini ambientali, verde urbano, agricoltore/selvicoltore custode, bonifica dei terreni inquinati ecc.;
- e. Valorizzazione del ruolo sociale dell'agricoltura: "agricoltura sociale", relazioni urbano – rurale, accettabilità sociale dell'attività agricola.

Area 3 - Inserire una delle seguenti linee di attività:

- a. Soluzioni organizzative, economiche e sociali alle difficoltà strutturali di integrazione orizzontale e verticale nei distretti e nelle filiere;
- b. Soluzioni tecnologiche per il miglioramento dei processi di filiera;
- c. Sviluppo di sistemi distributivi, commerciali, promozionali e di marketing.

Area 4 - Inserire una delle seguenti linee di attività:

- a. Produzione di alimenti di qualità per tutti (food security);
- b. Miglioramento, tutela e tracciabilità della qualità e della distintività e adeguamento dei relativi standard di certificazione;
- c. Tecniche sostenibili per la trasformazione, conservazione e confezionamento dei prodotti agroalimentari;
- d. Valorizzazione della relazione tra alimentazione e salute e della valenza nutraceutica dei prodotti agroalimentari.

Area 5 - Inserire una delle seguenti linee di attività:

- a. Sviluppo e razionalizzazione delle filiere di biomasse e di biocarburanti con adeguati requisiti di sostenibilità ambientale ed economica;
- b. Sviluppo di bioraffinerie per la produzione di materiali industriali e mezzi tecnici a partire da residui e scarti agricoli nell'ottica dell'adeguata remunerazione del settore agricolo.

Area 6 - Inserire una delle seguenti linee di attività:

- a. Nuovi strumenti di governance per il coordinamento e l'efficienza del sistema della conoscenza: analisi dei fabbisogni, pianificazione, monitoraggio, valutazione ecc.;
- b. Promozione del trasferimento dell'innovazione mediante servizi di supporto, formazione e consulenza alle imprese agricole, alimentari e forestali;
- c. Sviluppo di nuove modalità.

Largo Gemelli 1, Milano

- 3 Inserire uno degli 13 settori produttivi previsti dall'Allegato A del Piano Strategico per l'Innovazione e la ricerca nel settore agricolo alimentare e forestale (2014-2020), ovvero:
- a) Zootecnico;
 - b) Orticolo;
 - c) Cerealicolo;
 - d) Viticolo;
 - e) Frutticolo;
 - f) Olivicolo;
 - g) Biologico;
 - h) Floricolo;
 - i) Forestale;
 - j) Innovazione sociale;
 - k) Piante officinali;
 - l) Risicolo;
 - m) Pesca e acquacoltura.

Cognome NEGRINI
Nome RICCARDO
nato il 07/03/1968
(atto n. 359 P. 1 S. A.)
a VARESE (VA)
Cittadinanza ITALIANA
Residenza PIACENZA (PC)
Via V.I.A. LOMBARDIA N. 4
Stato civile --
Professione DOCENTE UNIVERSIT.
CONNOTATI E CONTRASSEGNI SALIENTI
Statura 1,75
Capelli CASTANI
Occhi CASTANI
Segni particolari --
==



Firma del titolare *Riccardo Negrini*
PIACENZA 10/4/09/2015

Impronta del dito indice sinistro

IL SINDACO
L'Ufficiale Delegato
(Tizzoni Pietro)

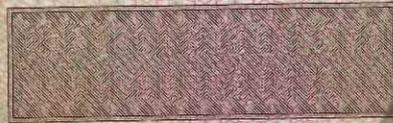
Dir. Car 5,42



DOCUMENTO VALIDO FINO AL 07/03/2026



AV 9441349



IPZS s.p.a. - O.G.V. - ROMA

REPUBBLICA ITALIANA



COMUNE DI

PIACENZA

CARTA D'IDENTITA'

N° AV 9441349

DI

NEGRINI

RICCARDO