



PROFESSIONE ALLEVATORE

Anno 38 - NUMERO 17 - 15/31 OTTOBRE 2021

QUINDICINALE DELL'ALLEVATORE DI BOVINI

CONTIENE I.P.

ISSN 1825-3199



> SERVIZIO

Azienda Barbieri
La stalla giovane

> ATTREZZATURE

Benessere animale,
funzionalità e redditività

> STRUTTURE

Manze, alloggiamenti
extra comfort

> AGRICOLTORE

Più sostenibilità con la
medica Made in Italy

CONTATTA OGGI
IL TUO VETERINARIO
*e chiedi come poter dare un supporto
al sistema immunitario dei tuoi bovini!*



Boehringer
Ingelheim



UNO STUDIO DI CAMPO

Metrite e *orphan disease*: c'è qualcosa di nuovo

a cura di Augusto Arpinelli⁽¹⁾, Luca Pochiero⁽¹⁾, Alessandro Ricci^(2, 3), Stefano Gallo⁽³⁾⁽¹⁾ Dvm, az. Maccarese SpA⁽²⁾ Dipartimento di Scienze Veterinarie, Università degli studi di Torino, Grugliasco⁽³⁾ Dvm Specialist Dairy Transizione 4.0, Granda Team

La metrite è una patologia tuttora presente in elevata concentrazione nelle stalle, tra i 5 e i 15 giorni post parto. Lo è soprattutto in alcuni periodi dell'anno, con evidenti ripercussioni sulla mandria sia da un punto di vista produttivo che riproduttivo. È possibile estrapolare la metrite dalla categoria delle "orphan disease" ovvero da quelle patologie metaboliche gravi che non hanno ancora un preciso "marker" metabolico? Un'ambiziosa prova di campo ha evidenziato per la metrite un possibile nuovo approccio in fase diagnostica e terapeutica.

La corretta gestione nutrizionale della fase di transizione ha da sempre due precisi obiettivi: immettere vacche sane all'interno del gruppo produttivo con il massimo di produzione latte alla quarta settimana. Obiettivi chiari e definiti che spesso nascondono una difficoltà tecnica assai rilevante in quanto, come tutti gli addetti ai lavori sanno, è in questa fase che si concentrano le patologie metaboliche più gravi per la vacca da latte con conseguente perdita di animali e riduzione della produzione latte.

Diagnosticare queste patologie in modo oggettivo, soprattutto a fini prognostici, è tutt'altro che semplice: tutti gli addetti ai lavori sanno, infatti, che l'identificazione delle "orphan disease" è assai complicata poiché non sono stati ancora identificati marker biologici (sangue, urine...) o strumentali (ecografia...) che rendano la classificazione oggettiva e priva di

interpretazione soggettiva.

È questo il caso della metrite, patologia tuttora presente in elevata concentrazione tra i 5 e i 15 giorni post parto soprattutto in alcuni periodi dell'anno, con evidenti ripercussioni sulla mandria sia da un punto di vista produttivo che riproduttivo.

Il termine "metrite" indica a rigor di etimologia "un processo infiammatorio a carico dell'utero con eziologia estremamente variabile (fattori tossici, meccanici, chimici e infettivi); escludendo per ovvi motivi i primi tre, rimane da identificare correttamente se la diagnosi di metrite su base clinica (vedi tabella 1) sia accompagnata e correlata con una diagnosi sierologica/strumentale in modo da avere uno "strumento" oggettivo di classificazione.

Un'ambiziosa prova di campo

L'obiettivo ambizioso di estrapolare la metrite dalla categoria delle

"orphan disease" è stato valutato grazie al lavoro svolto dai veterinari Augusto Arpinelli e Luca Pochiero operanti in Maccarese SpA, in collaborazione con i consulenti Granda Team, in un lavoro che ha visto una doppia diagnosi di metrite (clinica e strumentale) su 137 bovine analizzate in post parto nei mesi compresi tra ottobre 2020 e marzo 2021.

Le bovine sono state classificate in "patologiche" (M1 - M2 - M3 in base alla gravità clinica) e gruppo controllo, con l'obiettivo di comparare l'efficacia diagnostica clinica con quella strumentale, ma soprattutto per fornire un ausilio diagnostico strumentale a supporto della clinica ginecologica; i parametri di comparazione sia produttivi che riproduttivi sono stati forniti da

Maccarese SpA mediante registrazione su Dc305 previa attesa dei tempi fisiologici necessari a registrazione dei dati di fertilità.

Alcune precisazioni sulla metrite vera

Alcune precisazioni sono necessarie in questo ambito: la metrite "vera" (metrite puerperale) è una patologia che predispone la bovina a una ridotta produzione latte (9.461 vs 10.087, 305 dd milk yield, Dawod et Byeng 2014) con aumento degli open days (77 vs 158; Dawod et Byeng 2014) e incidenza economica elevata per la necessaria terapia: è fondamentale pertanto dedicare particolare attenzione alla diagnostica necessaria per identificare correttamente la

Tabella 1. Parametri di classificazione clinica e strumentale.

Diagnosi clinica: parametri a 4 giorni post parto	
• Tonicità utero	
• Temperatura rettale	
• Scolo: odore e aspetto	
Diagnosi strumentale	
• WBC (leucociti, linfociti, monociti, basofili, eosinofili)	

Tabella 2. WBC: Valori fisiologici bovina da latte.

Cellula	Valori fisiologici	Valori fisiologici %	Variabilità
WBC	4.000-11.000	-	-
LYM	2.500-7.500	45-75%	Linfocitosi: rara nel bovino (linfoma) Linfopenia: infezioni batteriche o virali acute
NEU	600-4.000	15-45%	Neutrofilia: moderata infiammazione / terapia in corso Neutropenia: acuta o severa patologia infettiva (sepsi, metrite, mastite)
MON	25-840	NO!	NON considerare
EOS	0-2.400	NO!	Solo per patologie parassitarie
BAS	0-200	NO!	NON considerare

Classificazione della metrite su base clinica (prof. Opsomer).

Postpartum uterine disease	Definition	Days after calving and reported incidence	Treatment
Retention of fetal membranes	Failure to expulse the placenta between 12 to 24 h after parturition	24 hours after parturition incidence: 4 to 12%	Strong traction is discouraged Local antibiotics?
Metritis (puerperal and toxic)	Enlarged, atonic uterus Fetid, watery red-brown discharge Signs of systemic illness (fever >39.5°C, decreased milk yield, signs of toxemia)	Within 21 days after calving Usually at the end of the first week after calving incidence: 5 to 15%	Local Antibiotics? In case cows become febrile, systemic antibiotics for at least 3 consecutive days Supportive therapy if required
Clinical endometritis and/or purulent vaginal discharge	Local inflammation of the endometrium (clinical endometritis) Presence of purulent or mucopurulent material in the vagina (PVD) Absence of systemic symptoms (fever)	≥ 21 days after parturition incidence: 20 to 30%	Intrauterine antibiotics (cephapirin) ≥26 after parturition Benefit of PGF2α is not clear
Pyometra	Presence of purulent material in the uterine lumen Corpus luteum present Cervix often closed	Depending on the days post calving after first ovulation incidence: 1 to 2%	Two doses of PGF2α with an interval of 11 to 14 days between applications
Cytological endometritis	Abnormal presence of PMNs in endometrial cytology samples Absence of clinical sign of purulent vaginal discharge	Diagnosed between 21 to 64 days after calving or during AI incidence: 9 to 76% most commonly between 25 to 35%	Intrauterine antibiotics (cephapirin) or PGF2α (both under discussion) Therapeutic flushing of the uterus?

gravità clinica della patologia, al fine di impostare precocemente la corretta terapia, riducendo in tal modo le vacche non recuperabili e pertanto eliminate dalla mandria (culling rate 2%; Dawod et Byeng, 2014).

I tentativi di diagnosticare strumentalmente la metrite sono molteplici; l'uso delle proteine della fase acuta (app) è stato valutato in più lavori (Smith et al., 1998; Sheldon et al., 2001) evidenziando spesso aumento delle stesse in concomitanza di metrite di vario grado (cut-off 0.8 g/l).

Huzzey et al. (2009) attribuiscono alle app (Hp) anche un valore prognostico: valori di aptoglobina al giorno 3 pp > 1 g/l evidenziano una possibilità di 6,7 maggiore di sviluppare una metrite acuta.

Recenti studi evidenziano però una comparsa di app in post parto anche in bovine non affette da alcuna forma di patologia: questa comparsa di app in seguito a insulti aspecifici purtroppo limita l'utilizzo delle

app sieriche quale strumento diagnostico differenziale per la diagnosi di metrite.

Utilizzo della formula leucocitaria

Il team di veterinari di Maccarese Spa hanno utilizzato una strumentazione atta a analizzare il WBC (White blood cell) in concomitanza alla diagnosi clinica, al fine di comparare la precisione di una diagnosi clinica vs una diagnosi strumentale; i dati comparativi riguardano dati produttivi e riproduttivi delle bovine patologiche (metrite 3) confrontate con bovine del gruppo controllo (sane).

L'utilizzo della formula leucocitaria è stato scelto al fine di valutare se le cellule del sistema immunitario evidenziano una minore crescita aspecifica nell'immediato post parto e pertanto identificano una minore probabilità di diagnosticare falsi positivi nell'ambito della metrite.

A questo scopo sono state analizzate 42 bovine classificate come "sane" (gruppo controllo); i dati

ottenuti sono esposti nella tabella 3. I valori riportati nella tabella 3 sembrerebbero evidenziare una leucocitosi anche nelle vacche "sane" rendendo pertanto inutile l'esame WBC quale strumento diagnostico distintivo nell'ambito

della metrite; con grande probabilità anche il WBC è influenzato da un'infezione aspecifica in post parto tale da rendere il dato non utilizzabile per diagnosi specifica di metrite; il dato, a nostro parere, deve essere però analizzato in modo più accurato.

In realtà obiettivo di questo lavoro è evidenziare un cut-off reale, comprensivo dell'infezione presente "parafisiologicamente" in post parto, tale da aiutare il clinico a diagnosticare correttamente nonché effettuare una corretta e appropriata terapia in concomitanza con la visita clinica.

Metrite 3: la rivincita del buiatra

A questo scopo evidenziamo i dati ottenuti con analisi WBC su bovine affette da metrite 3 (grave) evidenziati in tabella 4. Come è possibile notare le bovine affette da metrite "clanicamente grave" hanno una media di WBC molto simile alle bovine sane (14.400 vs 13.200); analizzando più approfonditamente il dato lo strumento identifica un gruppo di bovine "REAL M3" (media WBC: 18.000, 70% dei casi) e un gruppo "fake M3" (media WBC 6.200, 30% dei casi). Le performance produttive e riproduttive di questi 2 gruppi sono riassunte in tabella 5.

Tabella 3. Analisi svolta su 42 bovine classificate come "sane".

	Totale	Pluripare	Primipare
WBC (media)	13.200	12.300	15.700
LYM %	16,6	17,2	14,8
NEU %	72,6	70,0	77,7
N < 11.000 wbc	-	45%	27%

Tabella 4. Dati ottenuti con analisi WBC su bovine affette da metrite 3 (grave).

	Totale	Pluripare	Primipare
WBC (media)	14.400	13.300	15.800
LYM %	14,8	19,8	15,5
NEU %	74,1	72,7	75,7
N < 11.000		47%	30%
REAL M3**	18.000 (70%)		
FAKE M3**	6.200 (30%)		

** diagnosi strumentale.

Tabella 5. Dati produttivi e riproduttivi metrite 3 mediante analisi WBC.

	Prod. 4° sett	Prod. 8° sett	Open days	N° FA/grav	% primipare
REAL M3 (70%)	38,4	40,8	119	1,7	60
FAKE M3 (30%)	47,5	45	91	1,4	25

Emerge pertanto quanto segue: il 70% dei casi clinici di metrite 3 ha una diretta corrispondenza con la diagnostica strumentale, mentre il 30% delle bovine identificate con visita clinica non manifesta una reazione infiammatoria sistemica al giorno 3 e 4 post parto. Da un punto di vista clinico sorgono due dubbi metodici:

- 1) come trattare le bovine con ripercussioni sistemiche?
- 2) come trattare le bovine con

parametro WBC fisiologico? Insieme al team di veterinari dell'azienda Maccaresese è stata valutata una doppia strategia terapeutica al fine di ottenere le migliori performance sulle bovine trattate (solo antibiotico vs antibiotico + antinfiammatorio). Come evidenziato in tabella 6, l'aggiunta dell'antinfiammatorio ha effetti positivi non solo sulla produzione latte alla 4^a settimana (+ 2,5 litri), ma anche

Tabella 6. Strategie terapeutiche a confronto.

	Prod. 4° sett	Prod. 8° sett	Open days	N° FA/grav
Antibiotico	39,4	41,9	146,3	2,4
Antibiotico+ fans	41,9	41,9	89,9	1,3

e soprattutto sulle performance riproduttive (+ 56 giorni Pc nelle bovine con solo antibiotico). Appare evidente come il danno clinico della metrite sia riconducibile soprattutto all'attivazione della cascata infiammatoria a seguito del rilascio di molti metaboliti che agiscono negativamente sulla fisiologia dell'utero e dell'ovaio. Dai dati emersi è possibile pertanto riassumere quanto segue: la diagnosi clinica di metrite 3 ha una buona corrispondenza con la diagnosi strumentale mediante

WBC. In questo gruppo di bovine la terapia d'elezione sembra essere l'uso per via parenterale di antibiotico + antinfiammatorio al fine di non compromettere le performance riproduttive delle bovine affette da metrite. L'uso della strumentazione in questo gruppo potrebbe essere utile a identificare le bovine NON affette da una forma sistemica al fine di ridurre l'uso di antibiotico per via sistemica e impostare eventualmente una terapia antisettica per via endouterina.

Tecnologia in campo per migliorare la diagnosi - Il caso Maccaresese

L'approccio clinico strumentale adottato per le bovine affette da metrite grave è stato usato anche per il gruppo delle bovine con metrite M1-M2. Come è possibile notare questo gruppo ha una media di WBC nettamente superiore sia al valore fisiologico (11.000) sia al valore medio delle bovine affette da metrite 3 (14.400); in realtà anche per questo gruppo è necessario scorporare i dati (tabella 7). Il dato immediatamente percepibile è che la diagnosi strumentale e quella clinica sul gruppo M1 e M2 sembra non collimare: tra le bovine analizzate infatti solo il 18% risultano "real M2" (cioè non gravi), mentre l'82% di esse

ha valori di WBC assolutamente paragonabili a quelle del gruppo M3. Questo dato mette nettamente in discussione una diagnosi esclusivamente clinica sulle bovine M1 e M2: su base strumentale l'82% di esse dovrebbe infatti essere considerata "grave" e su di queste dovrebbe pertanto essere applicata una terapia del tutto simile a quella usata per le bovine M3. In termini concreti il rischio su base clinica è di sottostimare la gravità delle metriti M1 e M2 lasciando pertanto la bovina esposta a tutti i rischi sanitari di una metrite M3 non trattata. In effetti le bovine "Fake M2" (ovvero falsamente "intermedie", tabella 8), hanno dei dati riproduttivi assolutamente simili a quelli delle bovine affette da "real M3"; non così per i dati produttivi: le bovine real M3 infatti producono 6 litri in meno di latte alla 4^a settimana evidenziando una produzione media delle fake M2 assolutamente comparabile a una bovina sana. Questo dato è estremamente ingannevole poiché sembrerebbe indicare una bovina "clanicamente" poco compromessa con una produzione latte nella media di gruppo. A pagarne le conseguenze però sono i dati riproduttivi (open days 127 gg vs 91).



Tabella 7. Dati WBC su metrite 1 e 2.

	Totale	Pluripare	Primipare
WBC (media)	16.500	16.900	15.800
LYM %	14,1	13,2	15,7
NEU %	77,4	78,4	75,8
N < 1.1000	82%	20%	25%
REAL M2**	18% (7.400)		
FAKE M2**	82% (18.600)		

Tabella 8. Dati produttivi e riproduttivi delle bovine "Fake M2".

	Prod. 4° sett	Prod. 8° sett	Open days	N° FA/grav
FAKE malate M2 (82%)	44,5	43,7	127	2,5

Conclusioni

La diagnosi strumentale della metrite bovina è un obiettivo che molti studiosi di fisiopatologia bovina si pongono da alcuni anni; l'obiettivo è semplice, ma nel contempo molto complicato: trovare uno strumento che riesca a bypassare la "soggettività" della diagnosi e pertanto rendere più oggettiva e tecnicamente indiscutibile la diagnosi di metrite.

L'uso della quantificazione delle app è validato come strumento adatto a questo scopo anche se l'evidenziazione di falsi positivi nonché la difficoltà di applicazione pratica (costo delle analisi, spedizione al laboratorio, conoscenza dei cut-off fisiologici) rende questa applicazione poco usata.

Il gruppo di lavoro autore di questa pubblicazione ha usato uno strumento portatile per analisi emocromo citometriche con lo scopo di valutare direttamente in stalla con economicità e rapidità lo stato infiammatorio/infettivo della bovina testata.

Quanto emerso grazie al lavoro svolto dai veterinari Luca Pochiero e Augusto Arpinelli dell'a-



zienda Maccarese evidenzia come lo strumento sia di scarsa utilità nella diagnosi della metrite 3 in quanto diagnosi clinica e strumentale emettono la stessa

diagnosi nel 70% delle bovine analizzate; nel restante 30%, strumentalmente "sane", è un azzardo eccessivo NON effettuare alcuna terapia preventiva

su bovine con segni clinici di metrite acuta anche se NON confermati da una diagnosi strumentale.

Discorso completamente diverso nella diagnosi della metrite 1 e 2; inspiegabilmente il dato strumentale NON collima con quello clinico invertendo in maniera radicale la diagnosi effettuata.

Le bovine affette da metrite 1 e 2 su base clinica sembrerebbero avere in realtà una metrite 3 se diagnostica strumentalmente ponendo pertanto severi dubbi sulla possibilità di diagnosticare correttamente forme "blande" di metrite, soprattutto se l'obiettivo è gestire un'ipofertilità idiopatica riconducibile presumibilmente a endometrite piuttosto che ad altre cause.

Per quanto riguarda l'approccio terapeutico i dati sembrano collocare la metrite come una patologia a elevato danno infiammatorio; l'identificazione batterica quale causa eziologica di metrite è ad oggi molto complicata vista la presenza di un polimorfismo batterico spesso NON patologico. •

Terapia della metrite: facciamo un po' di ordine...

Negli ultimi anni la terapia della metrite è stata rivista e ridiscussa dagli studiosi esperti del settore sia nelle pubblicazioni che sui libri più recenti (Opsomer 2009, Heimerl et al. 2017, Lima et al. 2019, Lima et al. 2014, Rebhun' Disease of Dairy cattle). Sono attualmente fornite le seguenti linee guida.

Terapia antibiotica ad ampio spettro (penicillina, ampicillina, cefalosporina) per via **sistemica** con eventuale associazione di antiinfiammatorio (FANS): consigliata se presente temperatura ($39,5^{\circ}$ per più di 3 giorni consecutivi), inappetenza, diminuzione della produzione di latte.

Terapia intrauterina: sempre sconsigliata.

L'utero durante i primi giorni postparto e, soprattutto se positivo a metrite, è molto delicato e qualunque tipo di azione meccanica o di altro tipo rischia di essere lesiva per i tessuti e di peggiorare la situazione.

È molto complesso dosare correttamente i farmaci da somministrare per via intrauterina, per via del volume aumentato e per le eccessiva presenza di materiale che viene espulso (Opsomer et al. 2009, Gilbert et al. 2006).

Prostaglandine ($PgF2\alpha$) inefficaci a prescindere dalla dose somministrata e dalla frequenza (Mejia et al 2005, Galvao et al 2009).

L'effetto uterotonico della prostaglandina non ha dato risultati importanti nella cura della metrite, il loro utilizzo diventa efficace nello sfruttare la lisi del corpo luteo (CL) più avanti a più di 30 gg dal parto, ripetuta dopo 7 o 14 gg, in modo da sfruttare l'effetto di "svuotamento" dell'utero durante il calore.

Ossitocina: l'utilizzo nella terapia della metrite sia se somministrata subito al momento del parto per "prevenire", sia se somministrata successivamente (1-3 gg postparto), associata o meno alle $PgF2\alpha$, è stato dimostrato essere inefficace (Barret et al. 2009).