

Cellule somatiche in latte ovino. analisi e applicazione delle curve ROC



M. TOLONE¹, M.L. SCATASSA², I. MANCUSO², V. MIRAGLIA², B. PORTOLANO¹

¹ Dipartimento DEMETRA, Università degli Studi di Palermo

² Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia "A. Mirri", Palermo

Parole chiave: ROC, conta cellule somatiche, mastiti, ovini da latte.

INTRODUZIONE - Negli ovini da latte le mastiti costituiscono una delle principali cause di perdite economiche per la ridotta produzione e soprattutto per la scarsa qualità tecnologica del latte, in considerazione del fatto che il latte ovino è utilizzato prevalentemente per la trasformazione casearia (Leitner et al., 2004). L'esame batteriologico, ad oggi, è considerato il miglior metodo di diagnosi delle mastiti negli ovini (Gonzalez-Rodriguez and Càrmenes, 1996). Tuttavia l'esame batteriologico per singolo capo è difficilmente applicabile su larga scala nei programmi di controllo genetico delle mastiti. Diversi studi hanno dimostrato, soprattutto nella specie bovina, che il contenuto in cellule somatiche (SCC) del latte può essere impiegato sia come metodo diagnostico sia come criterio di selezione nei programmi di miglioramento genetico per la resistenza alle mastiti (Colleau and Le Bihan-Duval, 1995). Nei bovini è stato dimostrato che valori inferiori a 100.000 cellule/ml discriminano mammelle infette e sane (Schwarz et al., 2011), mentre negli ovini diversi studi sono stati condotti e sono ancora in corso per definirne un valore soglia (Pengov 2001; Rosati et al., 2005). L'efficacia diagnostica del SCC può essere valutata mediante l'applicazione delle Receiver Operating Characteristics curves (ROC), la cui area sottesa alla curva (AUC) è equivalente alla probabilità che un individuo estratto casualmente da una popolazione di individui infetti abbia un valore di SCC maggiore rispetto a quello di un individuo estratto, sempre casualmente, da una popolazione di individui sani (Bamber, 1975; Hanley and McNeil, 1982). Obiettivo di questo lavoro è stato applicare la metodologia delle ROC per valutare la capacità diagnostica del SCC nel discriminare le mammelle infette da quelle sane e per individuare un valore soglia discriminante in ovini da latte.

MATERIALI E METODI - In totale sono stati analizzati 14.072 campioni di latte individuale da 720 pecore di razza Valle del Belice in 5 allevamenti. I campioni sono stati prelevati mensilmente alla mungitura del mattino nel corso di 6 lattazioni comprese tra il 2006 e il 2012. I prelievi sono stati effettuati dalle due emimammelle in contenitori sterili, conservati a 4°C. L'isolamento e l'identificazione batterica sono stati effettuati tramite semina di 10 µl di latte su Agar Sangue (AS) incubato a 37°C per 24 - 48h in aerofilia e, se necessario, in microaerofilia e la determinazione delle SCC mediante citometria di flusso (Fosomatic FC). In base al risultato dell'esame batteriologico sono stati identificati 9 gruppi (Tab. 1). Il contenuto in SCC è stato convertito in "Somatic Cell Score" (SCS) mediante trasformazione logaritmica: $SCS = \log_{10}(CCS)$. L'AUC è stata stimata mediante approccio non parametrico utilizzando i valori di sensibilità e specificità ottenuti dicotomizzando i valori osservati in positivi e negativi al test. Pertanto, per ciascun valore z di SCS è definito un punto della ROC corrispondente a un set di valori $Se_{(z)}$ e $[1 - Sp_{(z)}]$ (Pepe, 2004). La ROC è stata utilizzata anche per selezionare un valore soglia discriminante ottimale che tenga conto dei costi degli esiti del test diagnostico. La funzione utilizzata per il calcolo del coefficiente angolare della retta tangente al punto operativo ottimale della ROC è stata ottenuta calcolando la derivata prima della funzione di costo proposta da Metz nel 1978 ed eguagliando la stessa a zero. Il Punto Operativo Ottimale (POO) sulla curva ROC è stato quindi individuato con la seguente funzione:

$$S = \frac{(1 - p)}{p} \cdot \frac{(C_{FP} - C_{TN})}{(C_{FN} - C_{TP})}$$

dove C_{TP} , C_{FP} , C_{TN} e C_{FN} sono rispettivamente il costo dei veri e falsi positivi e dei veri e falsi negativi. Tali costi approssimativamente sono stati stimati pari a $C_{TP} = € 50.00$, $C_{FP} = € 75.00$, $C_{TN} = € 12.50$, e $C_{FN} = € 99.75$.

RISULTATI E DISCUSSIONE - Le statistiche descrittive per il SCS ed il SCC rispetto all'esito dell'esame batteriologico sono riportate in tabella 1. La media aritmetica del SCS per i test negativi e positivi è risultata rispettivamente di 5.17 ± 0.008 e 5.80 ± 0.010 , la media geometrica del SCC per i test negativi e positivi è risultata rispettivamente di 146.96×10^3 e $630.85 \times$

Tabella 1 - Media aritmetica per gruppo del SCS e media geometrica del SCC x 1000 cells/ml.

Gruppo	N	Media SCS	Media Geometrica SCC
nessun isolamento	7865	5.17 ± 0.01	146.96 ± 1.98
SNC + altri streptococchi	32	5.88 ± 0.14	754.67 ± 2.22
Altri germi	73	5.41 ± 0.10	258.54 ± 2.90
SNC	4966	5.74 ± 0.01	544.06 ± 2.18
Stafilococchi + coagulasi	730	6.12 ± 0.03	1307.23 ± 2.29
<i>Streptococcus</i> spp	192	6.01 ± 0.05	1028.56 ± 2.07
Streptococchi patogeni	164	6.06 ± 0.05	1140.19 ± 1.95
<i>Corynebacterium</i>	11	6.25 ± 0.22	1756.70 ± 2.07
<i>M. haemolytica</i>	39	6.47 ± 0.09	2961.08 ± 1.77

10^3 cells/ml. Complessivamente sono risultati positivi all'esame batteriologico 6207 campioni con una prevalenza pari al 44,1%. L'AUC è risultata pari a 0.73 ± 0.004 ($P \leq 0.0001$). Il POO è risultato essere $>427 \times 10^3$ cells/ml, in corrispondenza di tale punto la sensibilità è pari al 59,2% mentre la specificità si attesta all'80,9%. In corrispondenza di tale valore il 71% dei soggetti positivi ed il 72% dei soggetti negativi sono classificati correttamente. La metodologia delle ROC fornisce delle utili informazioni per la valutazione dei valori soglia del SCC utilizzabili anche ai fini della selezione per la resistenza alle mastiti. L'approccio di tipo non parametrico per la stima delle ROC, adottato in questo studio, ha dimostrato che il SCC può essere validamente utilizzato per discriminare gli animali infetti da quelli sani. Tuttavia ulteriori studi si ritengono necessari per una più precisa valutazione economica dei costi delle mastiti in considerazione del fatto che il POO sulle ROC tende a spostarsi verso valori con più alta Se e più bassa Sp man mano che i costi dei falsi positivi si riducono rispetto a quelli dei falsi negativi o quando aumenta il valore della prevalenza.

■ Somatic Cells Count in ewe milk: Receiver Operating Characteristic (ROC) analysis

Key words: ROC, somatic cell count, mastitis, dairy sheep.

Bibliografia

- Bamber D. (1975), Journal of Mathematical Psychology;12: 387-415.
 Colleau J.J., Le Bihan-Duval E. (1995), Journal of Dairy Science; 78: 659-671.
 Gonzalez-Rodriguez M.C., Càrmenes P. (1996), Small Ruminant Research; 21: 245-250.
 Leitner G., Chaffer M., Shamay A., Shapiro F., Merin U., Ezra E., Saran A., SilanikoveN. (2004), Journal of Dairy Science; 87: 46-52.
 Hanley J.A. McNeil B.J. (1982) Radiology; 143: 29-36.
 Metz C.E. (1978) Seminars in Nuclear Medicine; 8: 283-298.
 Pengov a. (2001) Journal of Dairy Science 84; (3): 572-574.
 Pepe M.S. (2004) Oxford; New York: Oxford University Press.
 Rosati R., Militello G., Boselli C., Giangolini G., Amatiste S., Brajon G., Gazzoni S, Casini M., Scatassa ML., Bono P., Cannas A., Mugoni G., Simula M., Denti G., Gradassi S., Fagiolo A. (2005), Scienza e Tecnica Lattiero Casearia; 56 (3): 161-181.
 Schwarz D., Diestrebeck US., Brügemann K., Zshock M., Wolter W., Czerny CP. (2011) J. Dairy Sci; 94 (10): 5033-44.