Il lisato piastrinico può essere uno strumento a supporto della sanità della mammella? Primi risultati di un progetto di ricerca realizzato in Veneto

Dott. Giacomo Catarin
Dott. Luca Panozzo, Dott. Annalisa Stefani
Dott. Antonio Barberio, Prof.ssa Flaviana Gottardo

Convegno ORUS 19/11/2021

Cos’è il lisato piastrinico?

- Derivato piastrinico: concentrazione delle piastrine e lisi con sbalzi termici
- Liberazione contenuto cellulare -> alfa granuli

  - PDGF (AA-BB-AB) platelet-derived growth factors
  - VEGF: vascular endothelial growth factor
  - EGF: epidermal growth factor
  - FGF: fibroblast growth factor
  - IGF: insulin-like growth factor

COMMITTEE REPORT

Human platelet lysate current standards and future developments

Reinhard Henschler,[1] Christian Gabriel,[2] Katharina Schallmoser,[3] Thierry Burnouf,[4,5,6] and Mickey B.C. Koh[7,8]

J. Dairy Sci. 97:6223–6230
http://dx.doi.org/10.3168/jds.2014-7999
© American Dairy Science Association®, 2014.

Intramammary administration of platelet concentrate as an unconventional therapy in bovine mastitis: First clinical application

A. Lange-Consiglio,* C. Spelta,* R. Garlappi,† M. Luini,‡ and F. Cremonesi*§[1]
*Large Animal Hospital, Reproduction Unit, Università degli Studi di Milano, 26900 Lodi, Italy
†Private practitioner, 26833 Comazzo, Lodi, Italy
‡Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell’Emilia Romagna, 26900 Lodi, Italy
§Department of Veterinary Science for Animal Health, Production and Food Safety, Università degli Studi di Milano, 20133 Milano, Italy

Campi di utilizzo: medicina umana….

REVIEW ARTICLE

WILEY Journal of Cellular Physiology

Novel therapeutic approaches in utilizing platelet lysate in regenerative medicine: Are we ready for clinical use?

Majid Zamani[1,2] | Yoda Yaghoubi[3,4] | Aliakbar Movassaghpour[1,5] | Kazem Shakouri[1,6] | Amir Mehdizadeh[7] | Alireza Pishgahi[5,6] | Mehdi Yousefi[3,4]

International Journal of *Molecular Sciences*

MDPI

Review

Platelet-Rich Plasma: New Performance Understandings and Therapeutic Considerations in 2020

Peter Everts [1,*], Kentaro Onishi [2], Prathap Jayaram [3], José Fábio Lana [4] and Kenneth Mautner [5]

Platelet-rich plasma as an additional therapeutic option for infected wounds with multi-drug resistant bacteria: in vitro antibacterial activity study

Rıza Aytaç Çetinkaya[1] · Ercan Yenilmez[1] · Patrizio Petrone[2,9] · Soner Yılmaz[3] · Bayhan Bektöre[4] · Berksan Şimsek[5] · Tuğba Kula Atik[6] · Mustafa Özyurt[7] · Aytekin Ünlü[8]

…. Medicina veterinaria

Antimicrobial action of autologous platelet-rich plasma on MRSA-infected skin wounds in dogs

Haithem A. Farghali[1], Naglaa A. AbdElKader[1], Huda O. AbuBakr[2], Samira H. Aljuaydi[2], Marwa S. Khattab[3], Rehab Elhelw[4] & Mahmoud Elhariri[4]

J Equine Vet Sci. 2020 May;88:102952. doi: 10.1016/j.jevs.2020.102952. Epub 2020 Feb 1.

Treatment With Platelet Lysate Inhibits Proteases of Synovial Fluid in Equines With Osteoarthritis

Gustavo Perrone [1], Yael Lastra [2], Camilo González [1], Nicolás Caggiano [2], Rubén Giménez [1], Román Pareja [2], Emilio De Simone [3]

Affiliations + expand

PMID: 32303304 DOI: 10.1016/j.jevs.2020.102952

J. Dairy Sci. 97:6223–6230
http://dx.doi.org/10.3168/jds.2014-7999
© American Dairy Science Association®, 2014.

Intramammary administration of platelet concentrate as an unconventional therapy in bovine mastitis: First clinical application

A. Lange-Consiglio,* C. Spelta,* R. Garlappi,† M. Luini,‡ and F. Cremonesi*§[1]
*Large Animal Hospital, Reproduction Unit, Università degli Studi di Milano, 26900 Lodi, Italy
†Private practitioner, 26833 Comazzo, Lodi, Italy
‡Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, 26900 Lodi, Italy
§Department of Veterinary Science for Animal Health, Production and Food Safety, Università degli Studi di Milano, 20133 Milano, Italy

Platelet Rich Plasma for Regenerative Medicine Treatment of Bovine Ovarian Hypofunction

Fausto Cremonesi [1], Stefano Bonfanti [2], Antonella Idda [1] and Anna Lange-Consiglio [1]*

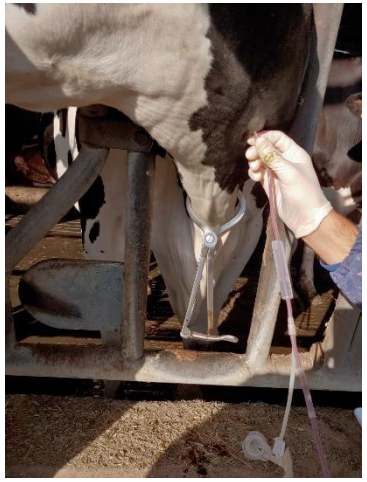
[1] Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Milano, Milan, Italy; [2] Private Practitioner, Milan, Italy

Selezione animali… trattamento autologo

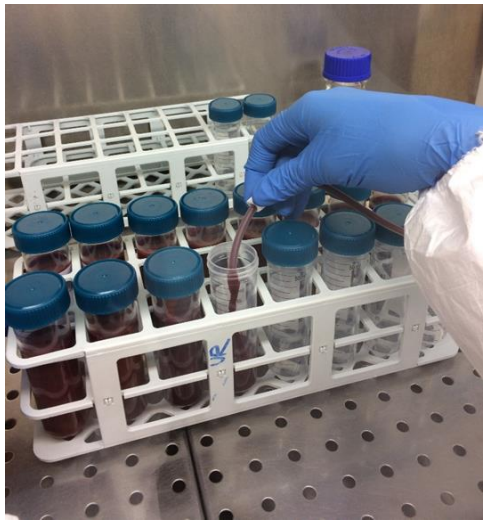
- Mastite clinica:
  - Pluripare
  - Primi 50-70 gg di lattazione
  - Rialzi cellulari lattazione precedente
  - NO animali cronici
- Asciutta
  - Rialzi cellulari nella lattazione corrente
  - NO casi ripetuti mastite clinica

Prelievo in campo

- Disinfezione con betadine e alcol dell’area di prelievo
- Prelievo giugulare di 400 ml di sangue con sacca contenente CPDA-1



Processazione in laboratorio



1° centrifugazione del sangue intero

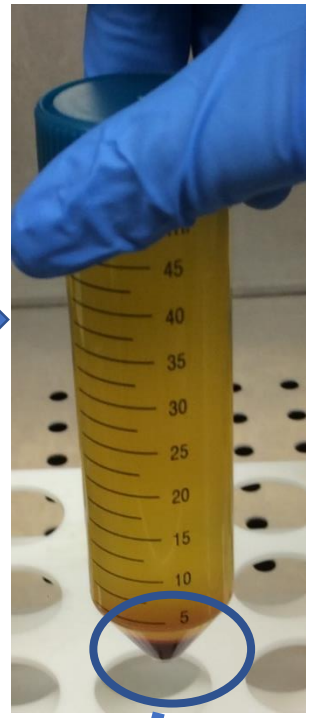
Separazione del sangue in:

PRP (plasma ricco di piastrine)

BUFFY COAT (leucociti)

GLOBULI ROSSI

2° CENTRIFUGAZIONE

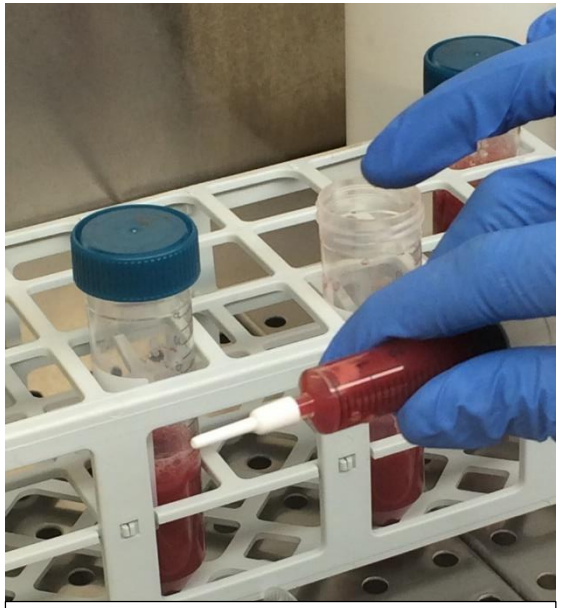


CP (concentrato piastrinico)

Valutazione della qualità e della sicurezza

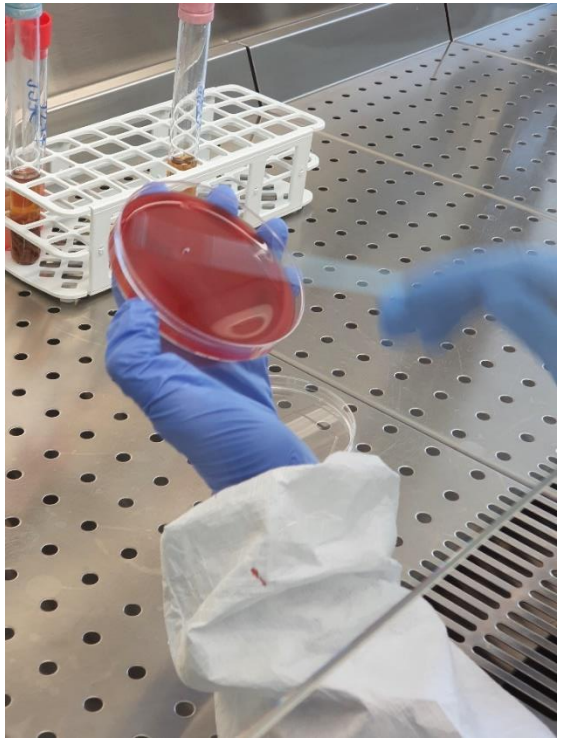
- Analisi della concentrazione piastrinica del sangue intero, del PRP e del CP
- Diluzione del concentrato a 1,5 x 10^9 piastrine/mL

- Preparazione siringhe
- Passaggio termico per lisi piastrine

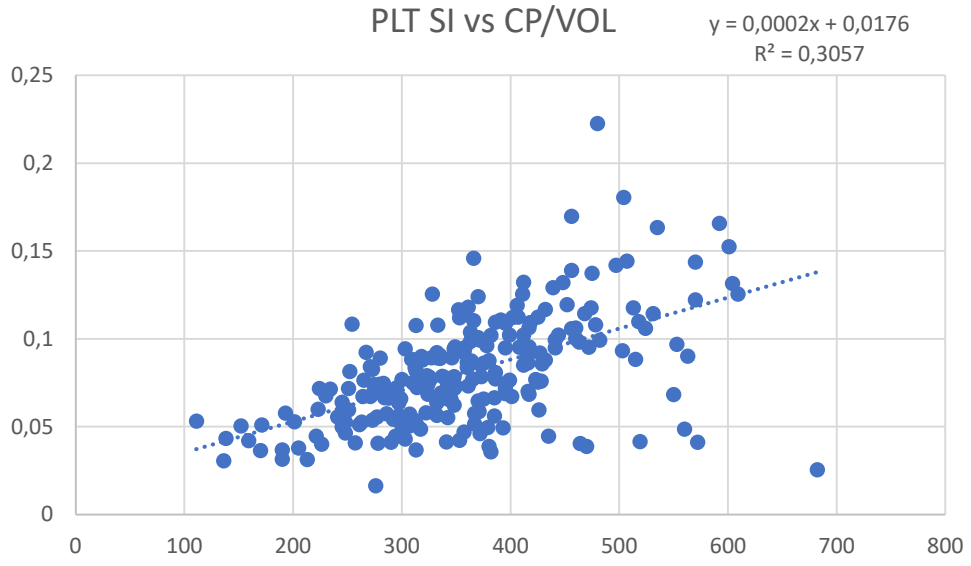


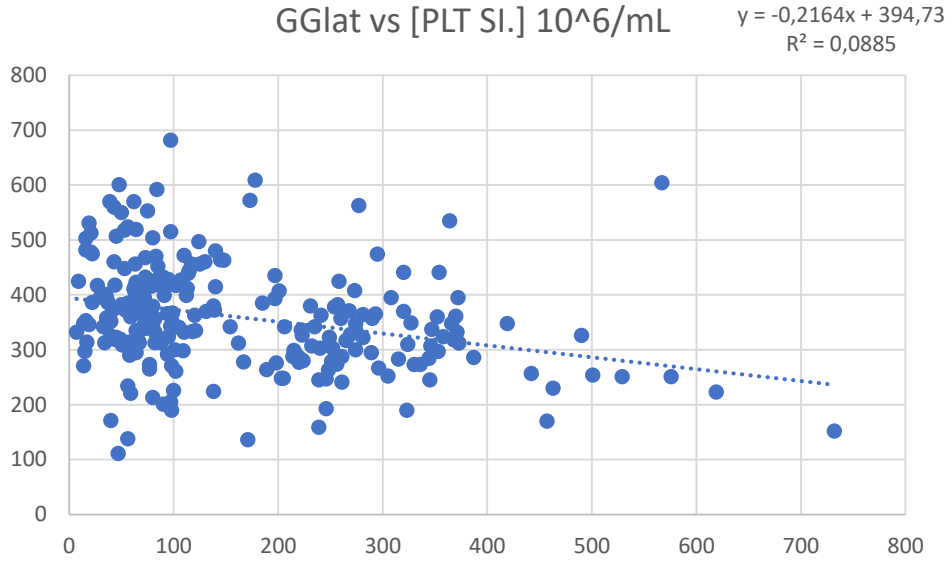
Siringa da 5 ml con ago endomammario
Stoccaggio a -20°C

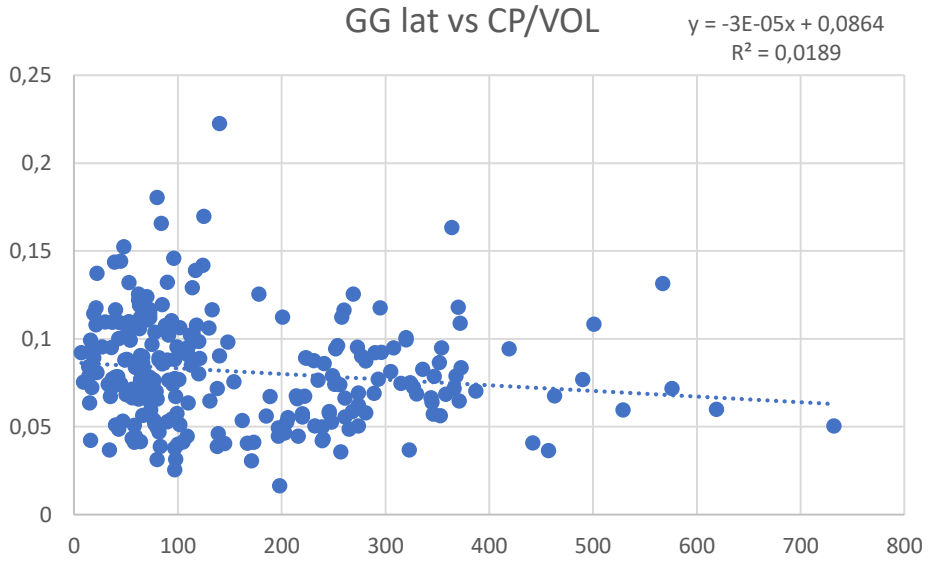
- Prova di sterilità



Cosa influisce la resa in lisato piastrinico??







La resa in lisato piastrinico è correlata negativamente con in giorni di lattazione

Produzione di lisato piastrinico: i numeri del progetto

15 allevamenti / 14 veterinari

7 in Provincia di Vicenza → 7 veterinari aziendali

1 in Provincia di Padova → 1 veterinario aziendale

2 in Provincia di Treviso → 1 veterinario aziendale

2 in Provincia di Belluno → 2 veterinari aziendali

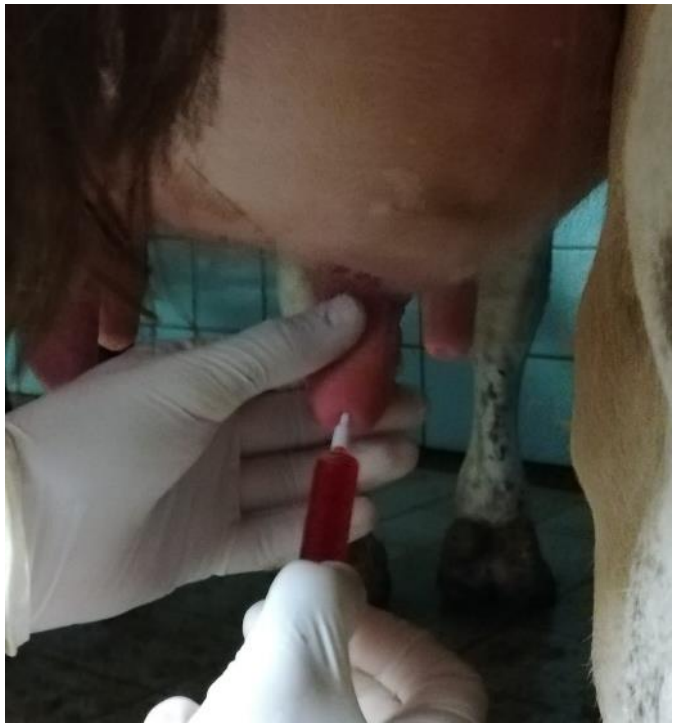
1 in Provincia di Venezia → 1 veterinario aziendale

2 in Provincia di Verona → 2 veterinari aziendali

Protocollo trattamento clinico e asciutta

Trattamento è uguale sia in asciutta che in caso di mastite clinica

- 1 candeletta da 5 ml ogni 24 h X 3 giorni consecutivi



TRATTAMENTO MASTITI CLINICHE

CASO CONTROLLO

46 CASI

ANTIBIOTICO

26 CASI

ANTIBIOTICO + ANTINFIAMMATORIO

20 CASI

CASO STUDIO

GRUPPO UNICO

LISATO PIASTRINICO

35 CASI

MONITORAGGIO DEI TRATTAMENTI

Ogni caso di mastite è stato monitorato dal punto di vista clinico e microbiologico mediante visita clinica, esame batteriologico e conta delle cellule secondo il seguente schema temporale:

1. Prelievo al momento della manifestazione clinica della mastite prima del trattamento
2. Prelievo 7 giorni post trattamento
3. Prelievo 14 giorni post trattamento
4. Prelievo 30 giorni post trattamento

VALUTAZIONE DEI RISULTATI OTTENUTI

ANDAMENTO CLINICO

ANDAMENTO MICROBIOLOGICO

ANDAMENTO CELLULE SOMATICHE

ANDAMENTO CLINICO

	ANTIBIOTICO		LISATO PIASTRINICO	
Migliorato	38	82,6%	25	71,4%
Non migliorata	4	8,7%	8	22,9%
Recidiva	4	8,7%	2	5,7%

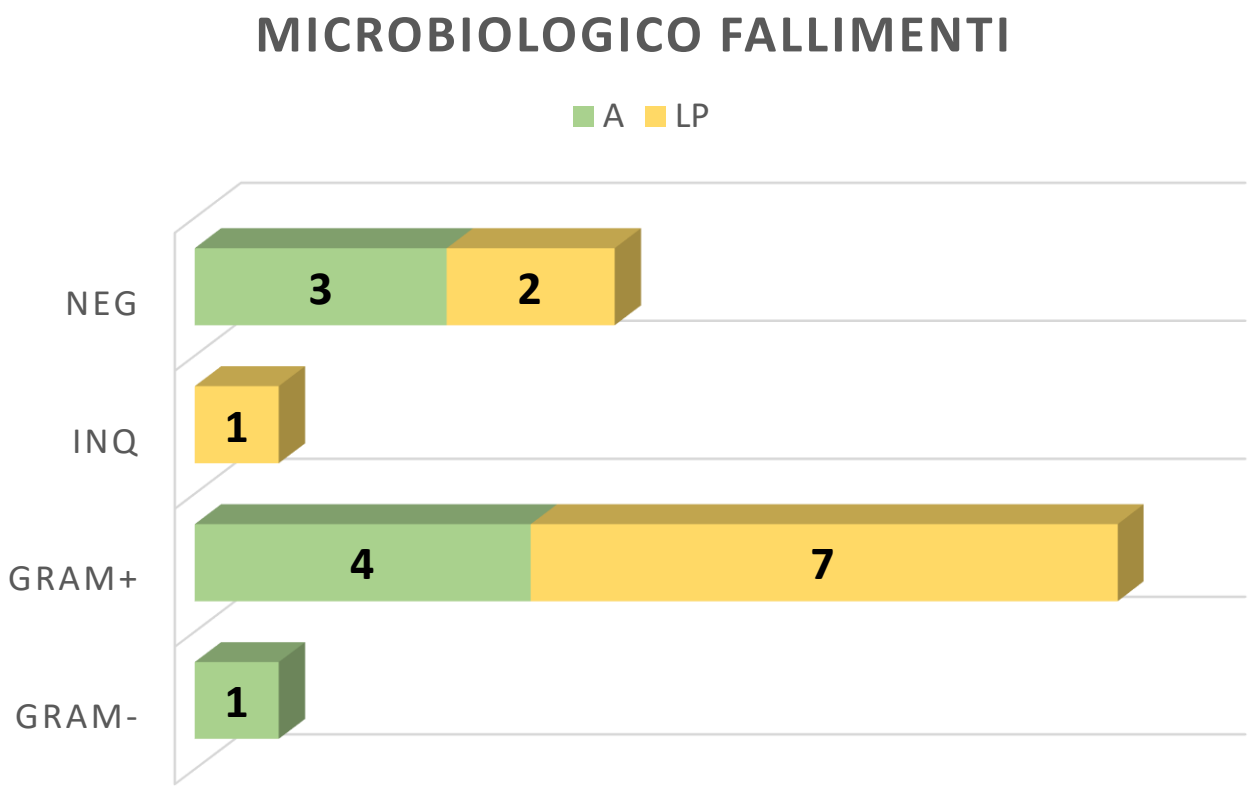
FALLIMENTO= casi non migliorati + casi recidivi

Non c'è un differenza statisticamente significativa tra il fallimento con antibiotico e lisato piastrinico.
P VALUE = 0,353

fallimento antibiotico
17 %

fallimento lisato piastrinico
29 %

DOVE NON HA FUNZIONATO CLINICAMENTE IL LISATO PIASTRINICO E «FATICA» L'ANTIBIOTICO…



GRAM+ TESI LISATO

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

GRAM+ TESI ANTIBIOTICO

- 2 UBERIS
- 2 DISGALACTIAE

CONFRONTIAMO ORA IL CASO STUDIO (ANTIBIOTICO) CON IL CASO CONTROLLO (LISATO PIASTRINICO)…

	ANTIBIOTICO	LISATO PIASTRINICO	p-value
Negativo	50,0%	37,5%	
Nuova infezione T7	0,0%	4,2%	
Positiva	26,3%	37,5%	0,590
Risanata	23,7%	20,8%	0,973

A 7 giorni post trattamento **non** si è rilevata una differenza statisticamente significativa sia per i casi rimasti positivi che per i casi risanati nelle due tesi di studio. A **livello microbiologico non** vi è **differenza tra l'uso del lisato e l'antibiotico**

ANDAMENTO CELLULE SOMATICHE TOTALI

PERCENTUALE DI CASI CON CELLULE SOMATICHE TOTALI SOTTO 200.000 CELL/ML

	Lisato	Antibiotico	Anti+ antinf	P =
TEMPISTICA CAMPIONE	% di casi	% di casi	% di casi	
7 GG	8,3[b]	18,2[ab]	43,8[a]	0,022
14 GG	22,7[b]	40,0[ab]	66,7[a]	0,028
30 GG	30,4[b]	50,0[ab]	73,3[a]	0,035

TRATTAMENTO IN ASCIUTTA

CASO CONTROLLO

227 CASI

ANTIBIOTICO

152 CASI

SIGILLANTE

75 CASI

CASO STUDIO

GRUPPO UNICO

LISATO PIASTRINICO

101 CASI

CAMPIONAMENTO PER IL TRATTAMENTO IN ASCIUTTA:

- Raccolta di campioni di latte dal **SINGOLO QUARTO** (circa 10 giorni prima della messa in asciutta) per fare effettuare le analisi delle **cellule somatiche totali** e del **microbiologico**
- Campione di latte a 15 e a 30 giorni dal parto per analisi cellule somatiche e microbiologiche
- Registrazione di casi di mastite o rialzi cellulari nei primi 30 giorni di lattazione

CRITERI DI TRATTAMENTO NEI VARI GRUPPI STUDIO

Gruppo: SIGILLANTE (S)

Quarti con

- < 200.000 cell/ml
- Microbiologico negativo per patogeni primari (S. aureus e Strep. agalactiae e Strep. uberis)
-

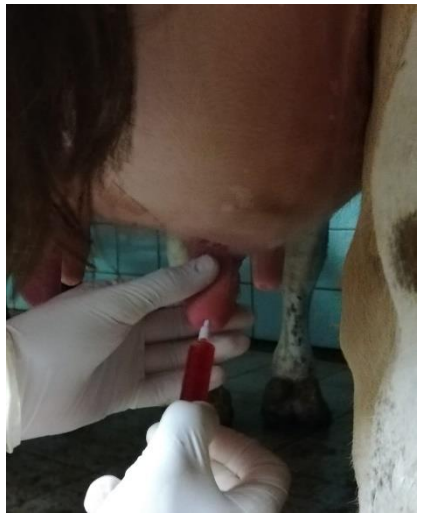
Gruppo: LISATO PIASTRINICO LP

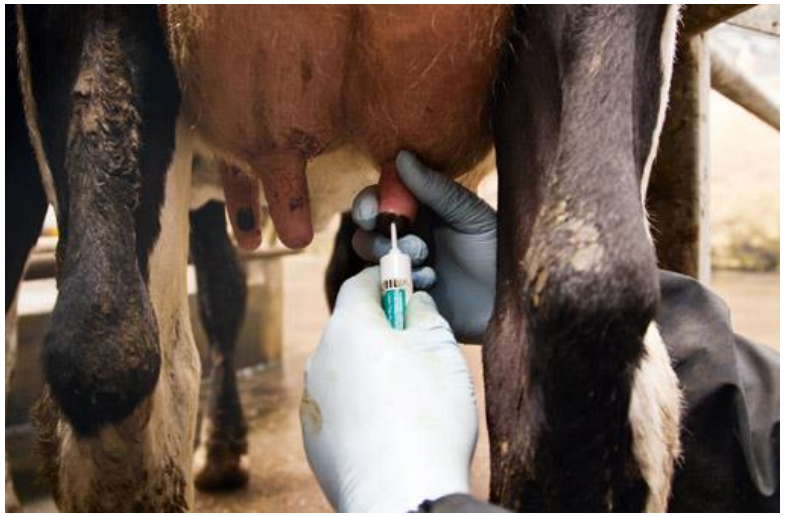
Quarti sia con cellule sia basse che alte

- Microbiologico negativo per patogeni primari (S. aureus e Strep. agalactiae e Strep. uberis)
- Almeno un rialzo cellulare o 1 caso di mastite durante la lattazione

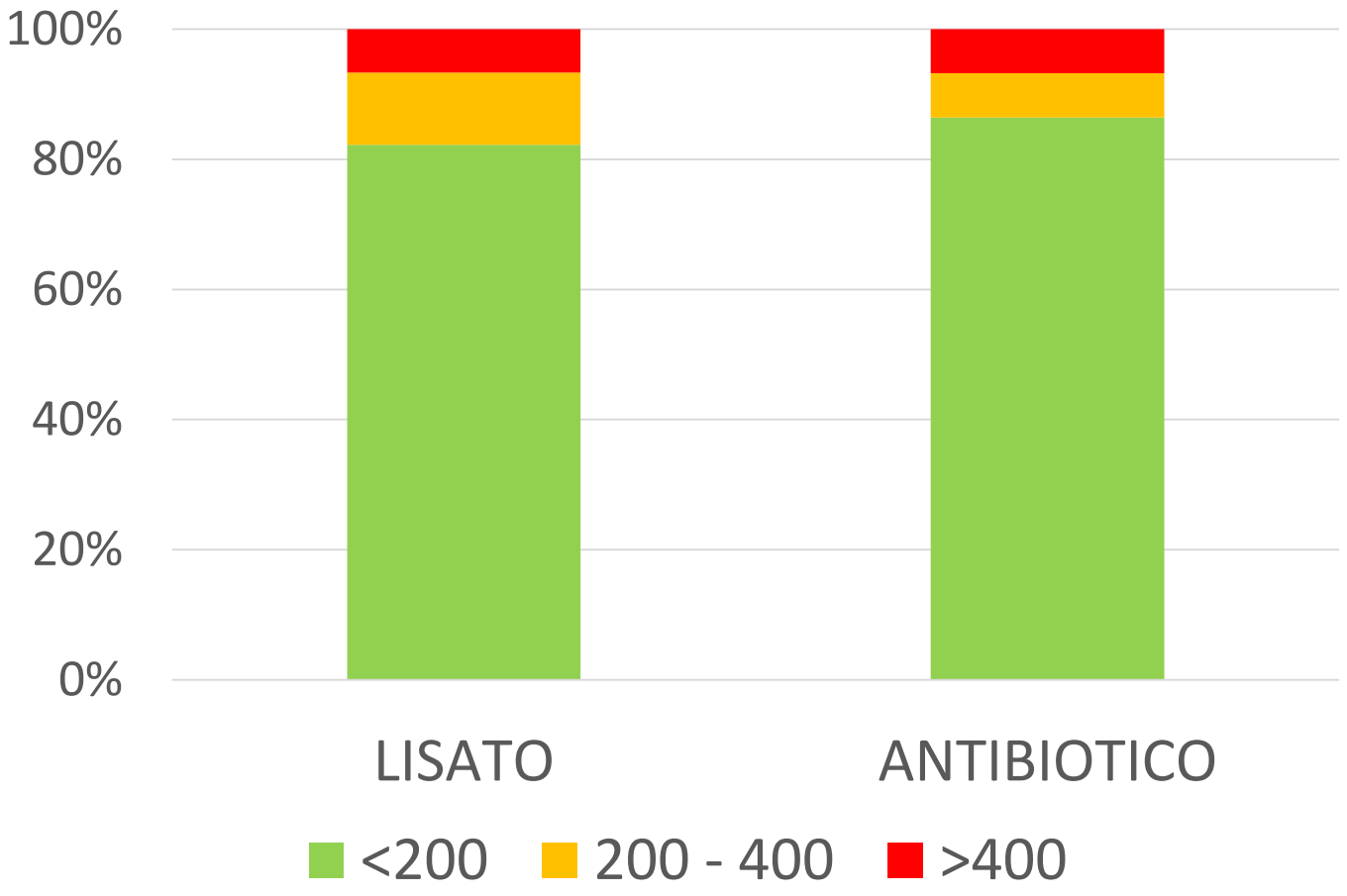
Gruppo: ANTIBIOTICO A

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



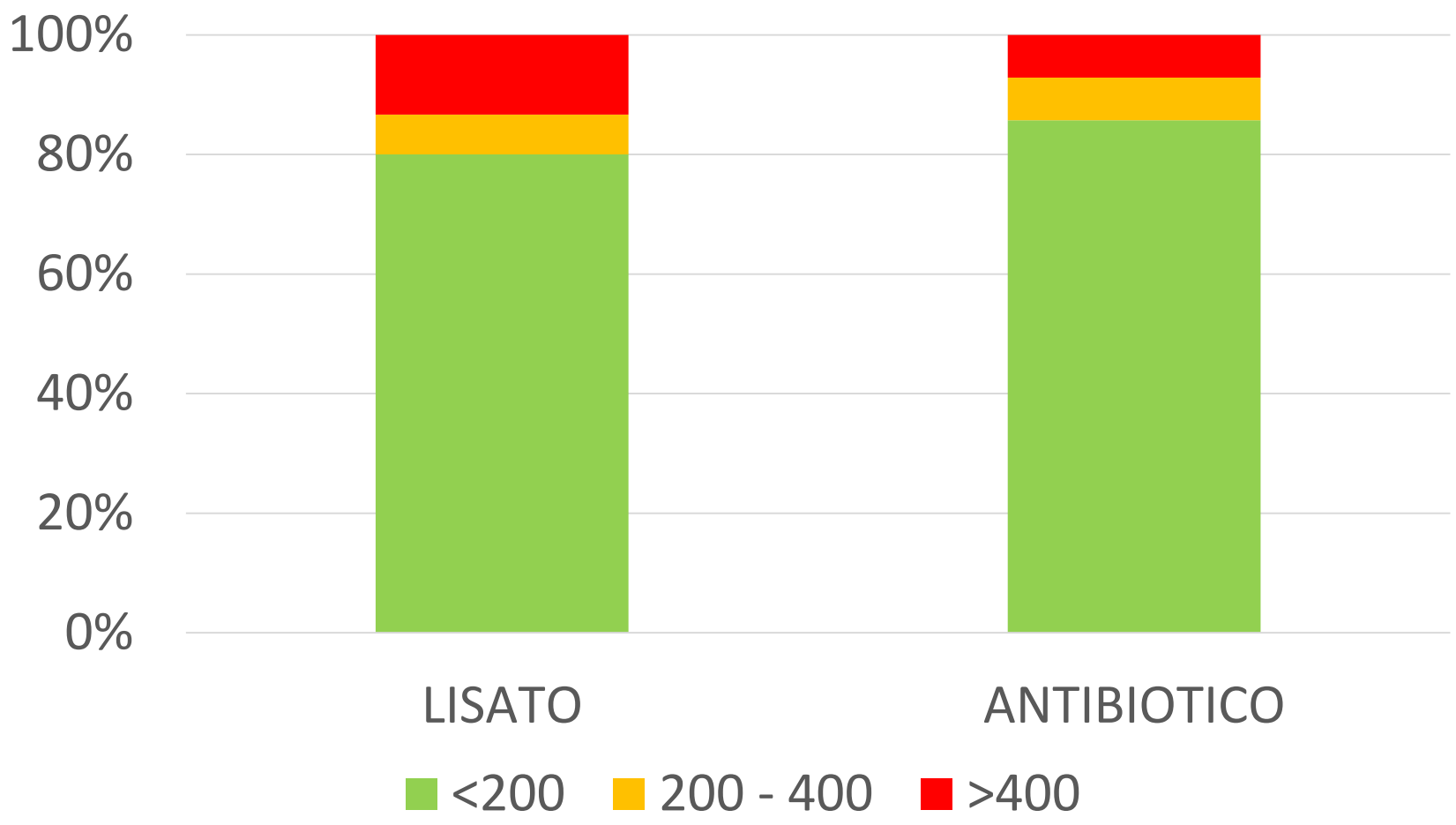


Cellule somatiche < 200.000/ml all'asciutta…
E nel post parto?



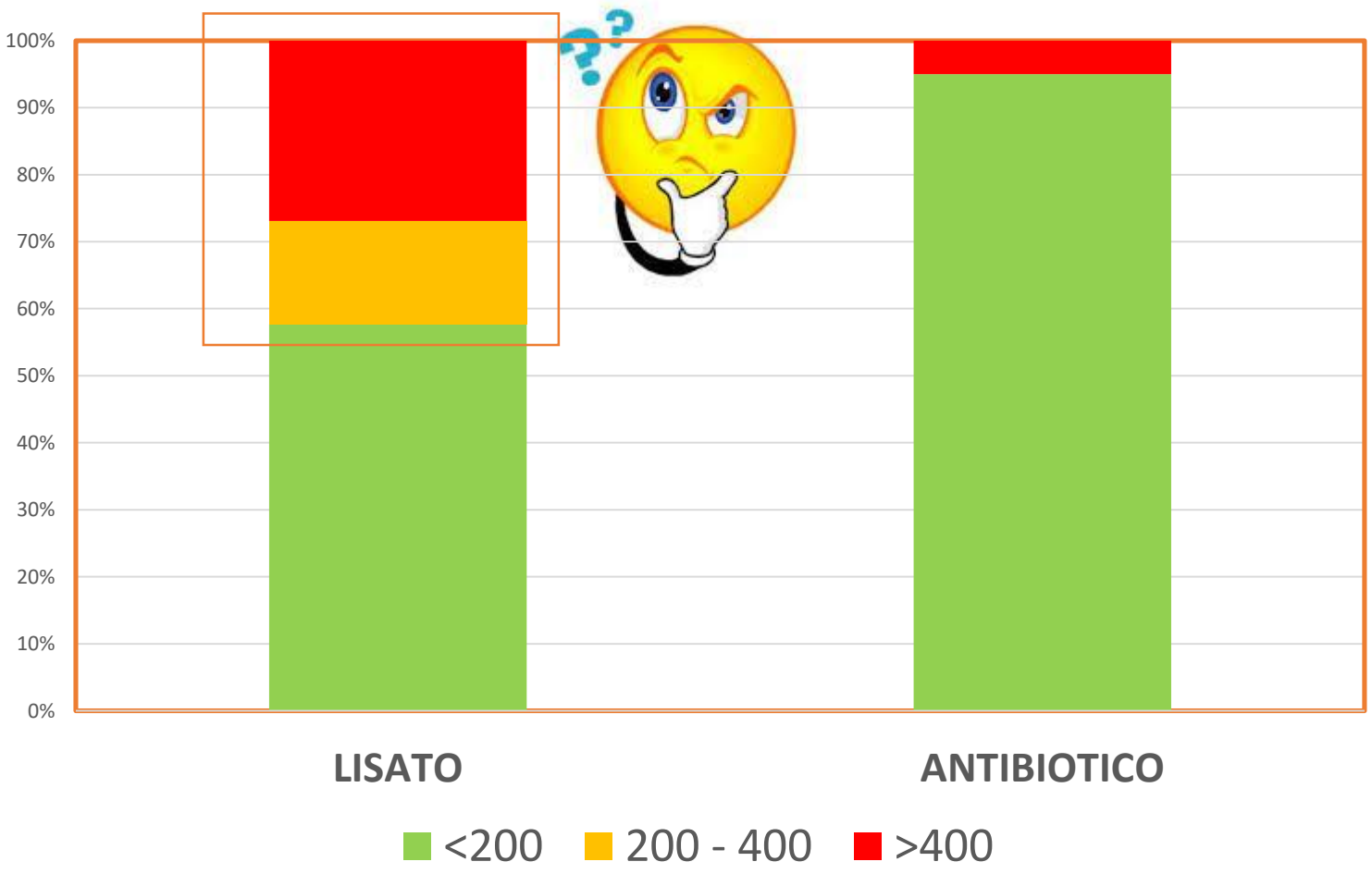
Nessuna differenza statisticamente significativa tra Lisato e Antibiotico

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



Nessuna differenza statisticamente significativa tra Lisato e Antibiotico

Cellule somatiche maggiore di 400.000/ml all'asciutta…
E nel post parto?



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

CONCLUSIONI E PROSPETTIVE FUTURE:

- Aumentare la casistica, la sperimentazione eterologa diventa fondamentale da questo punto di vista
- Lavorare per semplificare la procedura di trattamento in asciutta (1 somministrazione invece di 3)

REGIONE DEL VENETO

- I 15 allevatori che hanno partecipato al progetto per l'impegno sostenuto per la buona riuscita del Progetto
- I veterinari aziendali
- I tecnici di ARAV (Dott. Claudio Cattelan)
- Personale del laboratorio Patologia Clinica ed Ematologia IZSVe (dott. ssa Annalisa Stefani, dott. ssa Elena Albertin e dott. ssa Erica Littamè)