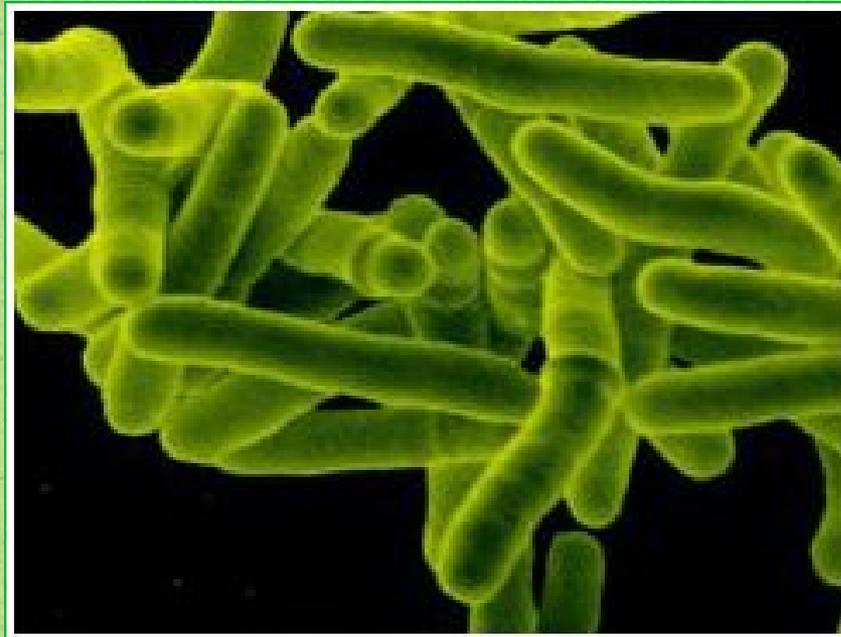


Tuberculosis Bovina



La Tuberculosis Bovina (TB) è una malattia infettiva contagiosa ad eziologia batterica, sostenuta da *Mycobacterium bovis* (*M. bovis*), che determina nell'ospite **lesioni nodulari di tipo granulomatoso**, conosciute come "**tubercoli**" localizzati in diverse sedi: linfonodi, polmoni, intestino, fegato, milza pleura e peritoneo.

ingenti danni economici e sanitari

ZOONOSI

Ippocrate (470-376 B.C.) fu il primo a descrivere persone che soffrivano di tubercolosi, chiamandola “phthisis”.

L'isolamento del germe avvenne nel 1892 per merito di Koch, ma solo nel 1911 fu chiarito che *M. bovis* può provocare nell'uomo una patologia simile a quella causata da *M. tuberculosis*



Nel 1970 fu proposta la denominazione specifica di *M. bovis*, prima considerato come variante del *M.tuberculosis* (*M. tuberculosis* var. *bovis* o *subspecie bovis*)

Le specie di micobatteri patogene per i mammiferi

M. Caprae
bovino capra maiale
cinghiale

M. Pinnipedii
leoni di mare

M. Bovis
bovino

Mycobacterium tuberculosis complex (MTC)

M. Tuberculosis
uomo primati

M. Africanum
uomo

M. Canettii
uomo

M. Microti
arvicole, uomo

EZIOLOGIA

FAM: MYCOBACTERIACEAE

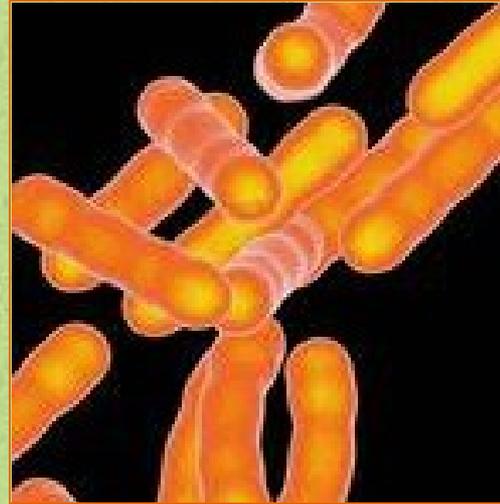
GEN: MYCOBACTERIUM

SPP: MYCOBACTERIUM BOVIS

EZIOLOGIA

M. Bovis

- Gram positivi (Gram-colorabilità debole)
- Forma bastoncellare
- Asporigeno
- Strettamente aerobio
- Immobile e privo di fimbrie e capsula



- Acido-resistente (sottoposto a colorazione di Ziehl-Neelsen assume un colore rosso)

EZIOLOGIA

- Crescita lenta (14-21 giorni). Su terreni a base di uovo le colonie tipiche sono piccole, rotondeggianti, dal color giallo pallido a color cuoio, con margini irregolari e superficie granulare (terreni di Petraghani, Sauton, Dorset)



Caratteristiche di resistenza

Temperatura

Regolarmente inattivato dalla **pastorizzazione** e dalle radiazioni solari, ma è in grado di resistere all'essiccamento (cere di tipo D che compongono la parete e che sono formate da acido micolico, peptidi e polisaccaridi)

Disinfettanti

Difficilmente inattivato dai comuni disinfettanti per la sua costituzione chimica (frazione glicolipidica parietale, cere D), alla quale è da ricondurre anche il fenomeno dell' 'alcool-acido-resistenza

Sopravvivenza

Vitale per 30-40gg nel muco tracheale.

Inattivato in circa 2gg nelle feci esposte al sole (se il tempo è umido, sopravvive 2 mesi in estate e, addirittura 5 mesi nel periodo invernale).

In acqua di rubinetto contaminata a 18-24°C sopravvive per 236 giorni

Nel latte anche se acidificato sopravvive per più di 15gg

Nel burro almeno 4 settimane

SPETTRO D'OSPITE

- ❑ **Bovino** è la specie maggiormente sensibile ed è considerato il vero ospite.
- ❑ **UOMO** (*Mycobacterium bovis* è in grado di provocare nell'uomo forme di malattia che risultano non distinguibili per gravità, lesioni e decorso rispetto alla forma causata da *Mycobacterium tuberculosis*).
- ❑ Numerose specie domestiche e selvatiche tra le quali: *bufalo, suino, pecora, capra, cavallo, cane, gatto, coniglio, cervo, capriolo, stambecco, camoscio, cinghiale, volpe, tasso*.

Vie di trasmissione

PRIMARIA: **Via respiratoria** l'infezione tubercolare avviene con l'inalazione di bacilli tubercolari presenti all'interno delle goccioline di muco emesse con colpi di tosse e starnuti.

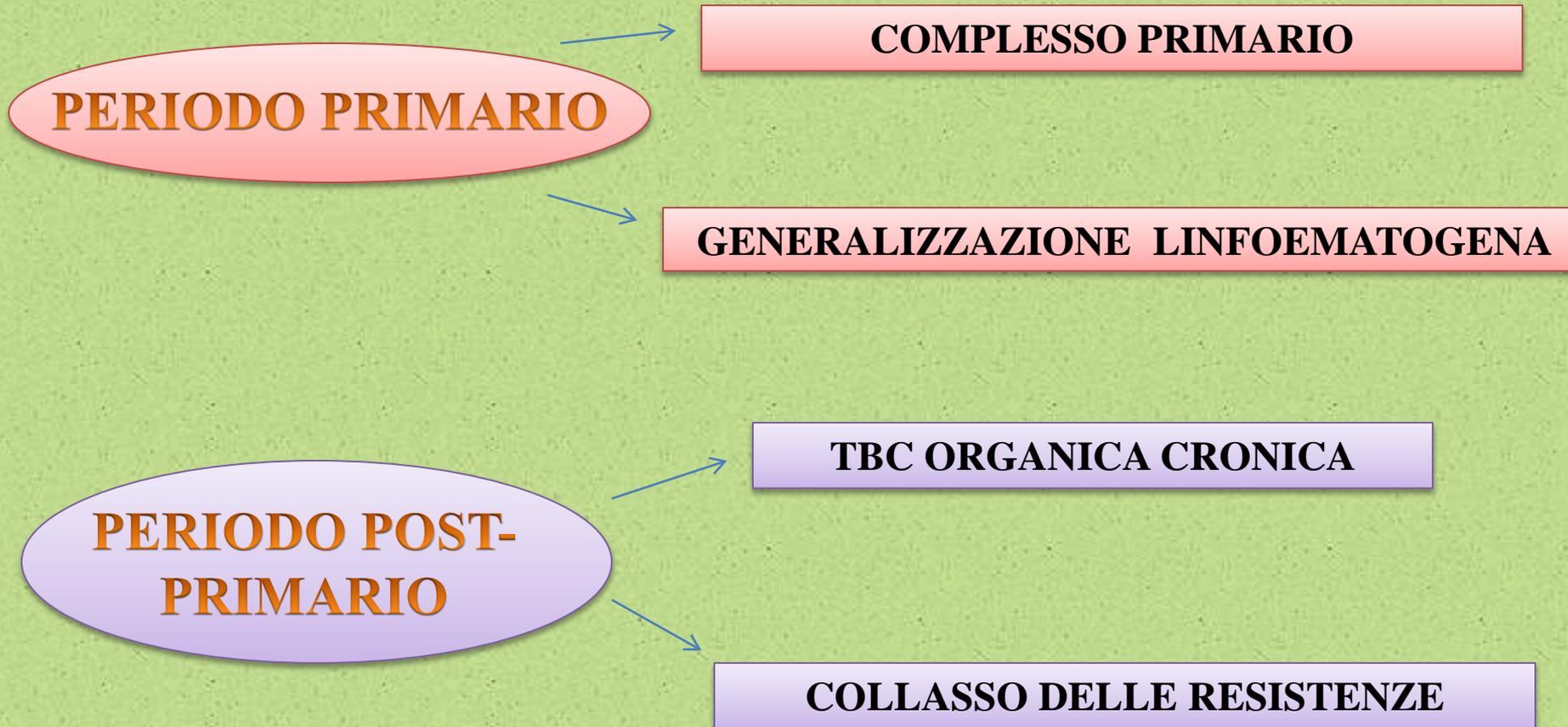
Via intestinale ingestione con alimenti di origine animale infetti, o con mangime, pascoli e acqua contaminati.

SECONDARIA: **Via verticale** (utero → feto), **urinaria** (tubercolosi renale), **spermatrica** (infezione alla prostata e dell'epididimo), **tramite scolo vaginale** (tubercolosi uterina) e **cutanea** .

Vie di trasmissione

La fonte principale di contagio per **l'uomo** da *Mycobacterium bovis* è rappresentata dal contatto con animali infetti e dall'ingestione di prodotti provenienti da animali infetti.

Patogenesi



PERIODO PRIMARIO

- *Complesso primario*: corrispondente alla sede d'entrata (**completo o incompleto**)

LESIONI

- Lesioni scarse o assenti negli organi di ingresso
- Lesioni evidenti nei linfonodi tributari:
 - retrofaringei
 - tracheobronchiali
 - meseraici
 - epatici

COMPLESSO PRIMARIO

localizzazione all'interno del tratto respiratorio a livello degli alveoli polmonari e linfonodi

fagocitosi da parte dei macrofagi all'interno dei quali restano vitali e in rapida replicazione

risposta immunitaria cellulo-mediata caratterizzata dall'afflusso di macrofagi e linfociti T

TUBERCOLO ELEMENTARE

Non visibile macroscopicamente

TUBERCOLO MILIARE

Visibile a occhio nudo

Reazione granulomatosa

GUARIGIONE

INCAPSULAMENTO

necrosi

CALCIFICAZIONE

BATTERIEMIA TUBERCOLARE
(Generalizzazione linfo-ematogena)

GENERALIZZAZIONE LINFOEMATOGENA

Può avvenire per continuità intra-canalicolare (bronchi, dotti, biliari, dotti galattofori), ma soprattutto per contiguità attraverso le vie ematica e linfatica

Morte

Guarigione

Periodo post-primario

Lesioni
incapsulate, con
infezione
inattiva-latente

GENERALIZZAZIONE LINFOEMATOGENA

GENERALIZZAZIONE ACUTA-PRECOCE

GENERALIZZAZIONE PROTRATTA-LENTA

GENERALIZZAZIONE LINFOEMATOGENA

Dal punto di vista **anatomopatologico** abbiamo 3 forme:

- ❑ - TBC MILIARE ACUTA (Generalizzazione precoce)
- ❑ - TBC PRECOCE PROTRATTA: nodulare-nodosa
- ❑ - TBC A GROSSI NODI (Generalizzazione protratta)

TBC miliare acuta

- ❑ Conseguenza ad una **grave fase batteriémica**
- ❑ Quasi sempre mortale
- ❑ Noduli miliari disseminati nel polmone ed in altri organi
 - inizialmente grigiastri e traslucidi
 - poi giallastri ed opachi
 - presenza di un alone rossastro perifocale
- ❑ Spesso associata a tisi perlacea

TBC nodulare-nodosa

- Forma produttiva polmonare
- Consistenza ed aspetto lardaceo dei lobuli colpiti
- Poco comune nel bovino**
- Frequente nel suino causata da *M. avium*

TBC a grossi nodi

- ❑ Conseguenza di una fase batteriémica di lieve o moderata intensità
- ❑ Disseminazione polmonare e in altri organi di noduli miliari che si sviluppano in tempi più lunghi:
 - crescita eccentrica (apposizionale)
 - confluenza di più focolai vicini (conglomerazione)

PERIODO POST-PRIMARIO

Da un'infezione **endogena** (esacerbazione) o **esogena** (superinfezione), la lesione diffonde per vie preformate, per continuità interstiziale, per contiguità, per via intracavitaria (e.g. trans-peritoneale dal peritoneo all' utero; nel polmone si sviluppa una bronchite caseosa e focolai acinosi e acino nodosi e caverne).

TBC ORGANICA CRONICA

COLASSO DELLE RESISTENZE

TBC ORGANICA CRONICA

- ❑ Legate a caduta **parziale delle difese dell'organismo**
- ❑ Progressione lenta
- ❑ Tuberculosis cronica degli organi isolati (detta anche TB cronica evolutiva)
- ❑ Caratteristiche :
 - Mancanza della lesione al linfonodo

- ❑ Nei bovini non si ha guarigione
- ❑ Può riacutizzarsi → **collasso delle resistenze**

TBC ORGANICA CRONICA

Caratteristiche anatomopatologiche:

- ❖– Focolai acinosi ed acino-nodosi in sede polmonare
- ❖– Bronchite caseosa
- ❖– Caverne bronco-ectasiche polmonari
- ❖– Noduli ed ulcere tracheobronchiali
- ❖– Forme intracanalicolari del fegato, rene, testicolo, utero e mammella

COLLASSO DELLE RESISTENZE

- ❑ Repentino e totale **annullamento dell'immunità acquisita** durante la prima infezione
- ❑ Può avvenire in qualsiasi momento dell'infezione.
- ❑ Si verifica la generalizzazione per via ematogena e la rapida riacutizzazione delle lesioni locali degli organi (detta generalizzazione acuta tardiva)
- ❑ Caratterizzata da forme di tubercolosi miliare acuta tardiva

COLLASSO DELLE RESISTENZE

Caratteristiche anatomopatologiche:

- ❖ TBC miliare tardiva (rara)
- ❖ TBC acinosa galoppante
- ❖ TBC lobulare caseificante polmonare
- ❖ Forme caseificanti del rene, utero, mammella e sierose

SINTOMI

FORME CRONICHE

Sono conseguenti alla prima infezione e coincidono con il **complesso primario** e la **generalizzazione protratta**; nel periodo post-primario si può realizzare la tubercolosi cronica evolutiva di organi isolati

FORME ACUTE

Tipiche della **generalizzazione precoce (miliare acuta)** del primo periodo e della **generalizzazione tardiva (collasso delle resistenze)**.

QUADRO CLINICO

i segni variano secondo la distribuzione dei tubercoli nell'organismo e con poche eccezioni il decorso della malattia è cronico (spesso asintomatico)

Forma miliare acuta sintomi di una grave setticemia:

temperatura febbrile elevata (41 C) e continua, abbattimento, anoressia, marcata dispnea, imponente enfisema polmonare, rapido dimagrimento, esito rapidamente mortale

Collasso delle resistenze sintomi di ordine generale:

depressione del sensorio, disoressia, temperatura febbrile continua e sintomi corrispondenti alle lesioni degli apparati interessati

Forme croniche riacutizzate compromissione dello stato generale:

lento e progressivo dimagrimento, temperatura sub-febbrile o febbre intermittente, sintomi particolari legati alla sede delle lesioni.

Risposta immunitaria

La reazione dell'ospite alla tubercolosi è prevalentemente rappresentata dall'immunità cellulo-mediata (che si manifesta già dopo 4/6 settimane), affiancata, con il progredire della malattia, dalla risposta anticorpale.

La resistenza individuale dell'ospite dipende principalmente dall'immunità cellulo-mediata,



linfociti T



Ipersensibilità ritardata (TIPO IV)



TUBERCOLINA

DIAGNOSI UFFICIALE

DIAGNOSI IN VITA

- Intradermoreazione (IDT)
- γ -interferon (Reg.1226/2002)

DIAGNOSI POST-MORTEM

- Lesioni tipiche al macello
- NVL = No Visibile Lesion
 - Istologico
 - Isolamento

IDT *in vivo*:

evidenzia la reazione di ipersensibilità di tipo ritardato all'iniezione intradermica di Tuberculina

- ✓ **Intradermotuberculinizzazione *unica o singola***
(solo Tuberculina PPD Bovina)
- ✓ **Intradermotuberculinizzazione *comparativa***
(Coppia Tuberculine - PPD Bovina + PPD Aviare)

(D.M. 26 giugno 1981)

Il Derivato Proteico Purificato (**PPD: protein purified derivative**) viene ottenuto da una coltura in terreno liquido sintetico di *M. bovis*, mediante precipitazione con acido tricloroacetico (TCA), lavaggio del precipitato e sua dissoluzione in tampone fosfato fenolato e glicerina in opportuna concentrazione

IDT TECNICA

REGOLAMENTO CE 1226/2002 DELL'8 Luglio 2002

L'inoculazione deve avvenire nello spessore della cute situata tra il terzo anteriore e il terzo mediano del collo oppure a livello della spalla, 5 cm davanti o dietro la spina acromiana

- Tosare e pulire il punto di inoculo
- Prendere fra pollice ed indice una piega della pelle e misurare lo spessore con un cutimetro a molla
- L'inoculo deve essere effettuato via intradermica in direzione obliqua nella quantità di 0,1 ml di PPD, pari a 5000 UI. Se l'inoculazione è avvenuta in modo corretto alla palpazione si rivela un piccolo gonfiore



LETTURA

- A distanza di 72 ore misurare nuovamente lo spessore della piega cutanea e annotare il risultato

Reazione negativa

- Gonfiore circoscritto della piega cutanea con aumento di spessore della piega cutanea ≤ 2 mm
- Assenza di segni clinici



Reazione dubbia

- Aumento di spessore della piega cutanea compreso tra 2 e 4 mm
- Assenza di segni clinici

Reazione positiva

- Aumento di spessore della piega cutanea ≥ 4 mm nel punto di inoculo
- Presenza di segni clinici quali edema locale diffuso, essudazione, necrosi, dolore o infiammazione dei dotti linfatici regionali o dei linfonodi

γ -IFN *in vitro*:

L'Impiego del γ -IFN test si concorda tra Regioni, ASL, IZS competenti per territorio

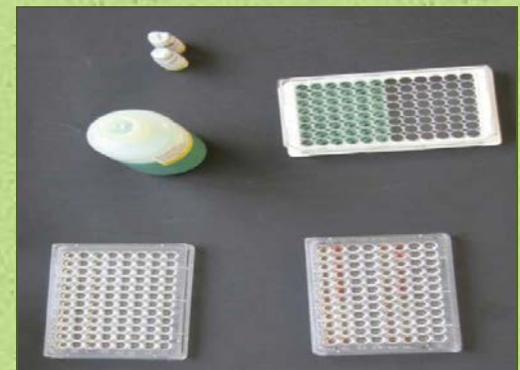
Evidenzia il rilascio di γ -IFN da parte di linfociti sensibilizzati/stimolati con la PPD Bovina, PPD Aviaria

Si articola in 2 FASI

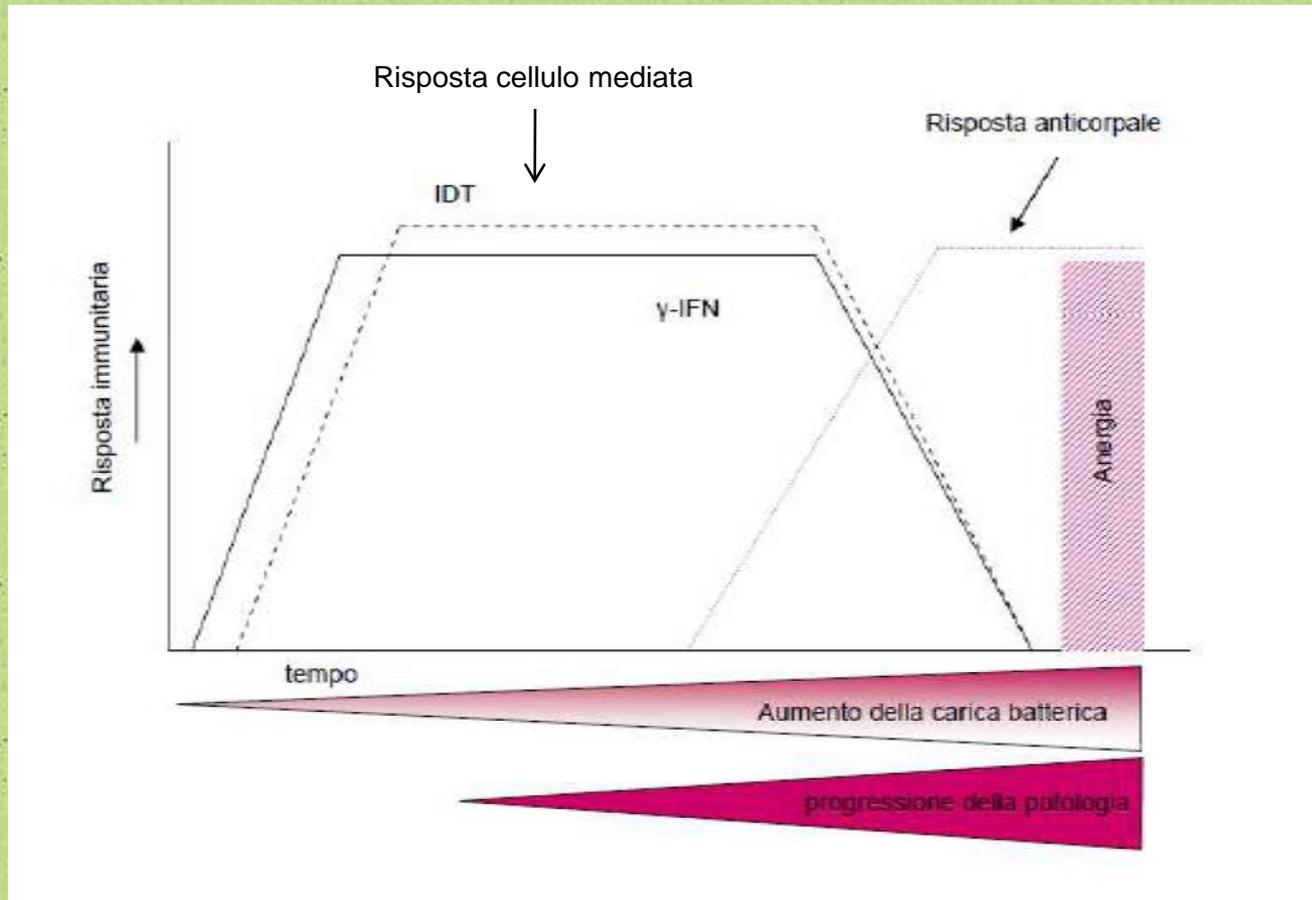
➤ **STIMOLAZIONE LINFOCITARIA**



➤ **TEST ELISA PER LA RILEVAZIONE γ - IFN**



Rappresentazione schematica dello spettro di risposte del sistema immunitario bovino ai vari test per bTB (adattata da *Vordermeier et al., 2004*)



Animali con infezione avanzata e generalizzata, non rispondono alla tuberculina a causa di una debole risposta dell'immunità cellulo-mediata. E' stato osservato che questi animali "anergici" sono probabilmente malati e altamente infettanti e che potrebbero essere la causa di gravi e persistenti focolai.

Un a certa proporzione di bovini "anergici" può essere rilevata con metodi sierologici:

ELISA



Sviluppati negli ultimi 20 anni per rilevare la tubercolosi bovina ed umana, generalmente presentano una **bassa sensibilità**, quando paragonati allo skin test e al γ IFN, soprattutto quando applicati ad animali ai primi stadi d'infezione.

Altri test diagnostici

Isolamento

La coltura convenzionale rimane il gold standard per la rilevazione di *M. bovis* in campioni clinici come i tessuti, il muco nasale, il sangue.

PCR

Le metodiche PCR non hanno fino ad ora mostrato d'essere superiori alla coltura di routine in termini di sensibilità e specificità.

Di uso limitato.

Limitazioni: basso numero di bacilli in campioni clinici, eliminazione intermittente, estrazione inefficiente del DNA dai micobatteri legata alla presenza d'inibitori di PCR nei campioni.

EPIDEMIOLOGIA

La tubercolosi da *M. bovis* in Italia è una malattia **controllabile** ed **eradicabile**.

prova intradermica → abbattimento degli animali positivi

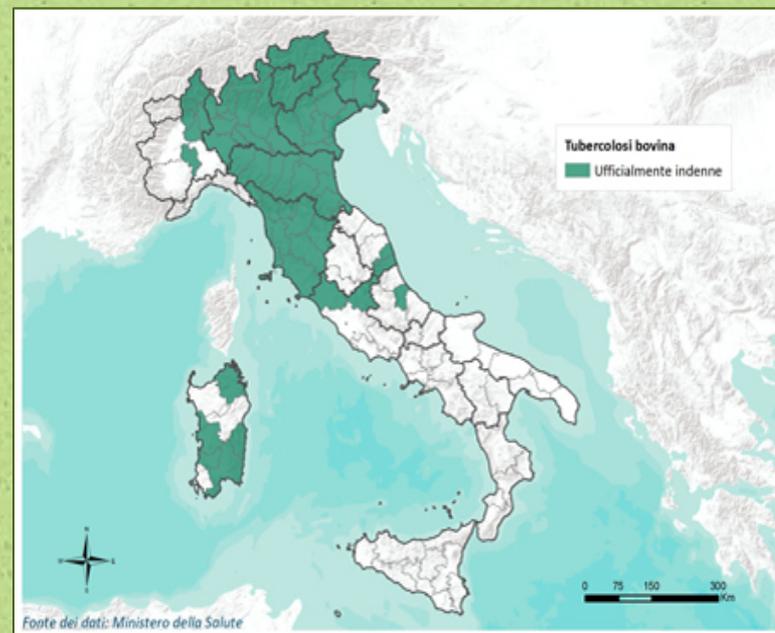
+

stringente politica di controllo

→ in Italia ogni anno vengono riscontrate oltre 500 aziende positive con un'incidenza che varia dallo 0,11% al 2,81% a seconda della Regione. Nel 2010 la Regione con più alta prevalenza ed incidenza risulta essere la Sicilia, seguita dalla Basilicata.

PROVINCE E REGIONI UFFICIALMENTE INDENNI AI SENSI DELLA NORMATIVA COMUNITARIA AL 19/04/2012

Tubercolosi bovina: Province e Regioni ufficialmente indenni ai sensi della normativa comunitaria al 19/04/2012		
DECISIONE CEE	PROVINCIA	REGIONE
2003/467/CE	Bergamo	Lombardia
	Lecco	
	Sondrio	Marche
	Ascoli Piceno	
	Bolzano	
2004/230/CE	Trento	Trentino Alto Adige
	Grosseto	Toscana
2005/28/CE del 12-01-2005	Como	Lombardia
	Prato	Toscana
2006/169/CE del 21-02-2006	Pescara	Abruzzo
2006/290/CE del 18-04-2006	Tutte le province	Friuli Venezia Giulia
	Tutte le province	Emilia Romagna
2007/174/CE del 20-03-2007	Novara	Piemonte
	Verbania	
	Livorno	Toscana
	Lucca	
	Siena	
	Belluno	Veneto
	Padova	Piemonte
Vercelli		
2008/97/CE del 30-01-2008	Pisa	Toscana
2008/404/CE del 21-05-2008	Pistoia	Toscana
	Tutte le province	Veneto
2009/342/CE del 23-04-2009	Oristano	Sardegna
2010/391/CE del 08-07-2010	Tutte le province	Lombardia
	Tutte le province	Toscana



Regioni Ufficialmente Indenni da TBC bovina: Trentino Alto Adige, Friuli Venezia Giulia, Emilia Romagna, Lombardia, Toscana.

In Abruzzo solo la Provincia di Pescara ha la qualifica di Provincia Ufficialmente Indenne

Cause della persistenza:

- ✓ Procedure manageriali
- ✓ Permanenza di animali infetti negli allevamenti e la loro movimentazione
(controllo incompleto degli animali controllabili o movimentazioni illecite)
- ✓ Reservoirs selvatici (tasso, opossum, ungulati e carnivori selvatici)

PROFILASSI

ERADICAZIONE TUBERCOLOSI BOVINA E BUFALINA

(D.M. 592/95 – D. Lgs. 196/99)

La normativa comunitaria e nazionale prevede l'esecuzione di controlli minimi sulla base della prevalenza della malattia e della qualifica sanitaria della provincia o della Regione. Laboratorio di referenza IZS della Lombardia e dell'Emilia Romagna.

METODI: intradermotubercolizzazione (IDT) e, in alcune Regioni, prelievo di sangue per l'effettuazione dell'analisi del gamma-interferon.

Nelle aziende ufficialmente indenni sono previsti due controlli annuali. Con la riduzione della prevalenza della malattia o l'acquisizione della qualifica di provincia ufficialmente indenne è prevista la possibilità di diradare i controlli passando dalla fase di eradicazione alla fase di sorveglianza.

Nelle aziende bovine e bufaline vengono controllati tutti gli animali dalle 6 settimane di età in poi.

Condizioni affinché un allevamento possa essere dichiarato “Ufficialmente Indenne” a livello comunitario da tubercolosi bovina e bufalina

- a) Nessun animale deve presentare sintomi clinici di tubercolosi;
- b) Tutti gli animali di età superiore a sei settimane devono reagire negativamente ad almeno due intradermotubercolizzazioni ufficiali praticate secondo le disposizioni dell'allegato B del D.Lgs 196/99, la prima sei mesi dopo l'eradicazione di qualsiasi eventuale infezione dall'allevamento e la seconda sei mesi più tardi.
- c) Quindi.... non deve essere introdotto nell'allevamento alcun bovino di età superiore a sei settimane, salvo qualora abbia reagito negativamente ad una intradermotubercolizzazione eseguita nei 30 giorni precedenti o nei 30 giorni successivi alla data d'introduzione dell'animale nell'allevamento .

Un allevamento bovino mantiene la qualifica di allevamento ufficialmente indenne da tubercolosi se: continuano ad essere soddisfatte le condizioni di cui alle lettere a) b) e c)

Condizioni affinché una Provincia possa essere dichiarata “Ufficialmente Indenne”

- a) Qualora la media (determinata al 31 dicembre di ogni anno) delle percentuali annue di allevamenti bovini positivi risulti, **in media inferiore all'1%** di tutti gli allevamenti dell'area in questione e quindi gli allevamenti vengono testati con cadenza biennale

Condizioni affinché una Regione possa essere dichiarata “Ufficialmente Indenne”

- a) Negli **ultimi sei anni** la percentuale degli allevamenti bovini positivi non ha superato lo 0,1% annuo del totale degli allevamenti e almeno il 99,9% degli allevamenti è stato dichiarato ufficialmente indenne da tubercolosi, **ogni anno**, negli ultimi sei anni;
- b) Sistema di identificazione che consente di identificare gli allevamenti di origine e di transito per ogni bovino (tracciabilità dei capi).
- c) Tutti i bovini macellati devono essere sottoposti ad un'ispezione ufficiale post-mortem

IDT positiva o dubbia

reazioni dubbie o positive alla prova tubercolinica

```
graph TD; A([reazioni dubbie o positive alla prova tubercolinica]) --> B[tutti gli animali saranno sottoposti ad accurata visita clinica ed ad eventuali ricerche di laboratorio]; B --> C[esito favorevole]; C --> D[sottoposti alla prova comparativa o alla prova del gamma interferon];
```

tutti gli animali saranno sottoposti ad accurata visita clinica ed ad eventuali
ricerche di laboratorio

esito favorevole

sottoposti alla prova comparativa o alla prova del gamma interferon

BOVINI DICHIARATI INFETTI

- Inviati alla macellazione entro il termine massimo di 30 giorni
- La macellazione dei capi infetti deve avvenire in giornate distinte o in orari differenziati e posticipati rispetto alla normale attività.
- Il personale addetto alla macellazione deve usare tutte le cautele necessarie ed essere dotato dei mezzi indispensabili per la prevenzione delle malattie professionali.
- All'atto della macellazione i veterinari ispettori preleveranno dai capi infetti campioni biologici per le indagini di laboratorio tese all'isolamento ed alla eventuale tipizzazione dell'agente eziologico.
- Il macello, terminate le operazioni, dovrà essere accuratamente lavato e disinfettato.

Allevamenti infetti da tubercolosi, casi dubbi e presenza di lesioni specifiche riscontrate al macello

- I Servizi Sanitari emettono il provvedimento di sequestro cautelativo
- I controlli diagnostici vengono estesi a tutti gli animali
- Viene avviata un'accurata indagine epidemiologica tesa ad accertare l'origine dell'infezione e la sua diffusione anche in relazione alla salute pubblica
- Negli allevamenti infetti sono adottati con tempestività i provvedimenti di Polizia Veterinaria previsti dalla normativa vigente