

Manifestazione di interesse:  
Identificare capi di allevamento infetti da  
**PARATUBERCOLOSI** in fase subclinica

Roma 11-04-2017

Dr. Francesco La Mancusa  
Azienda sanitaria Provinciale di Catania



# Paratubercolosi

- La Paratubercolosi è una malattia infettiva e contagiosa che colpisce in particolare i ruminanti domestici e selvatici.
- Agente Eziologico *Mycobacterium avium* subs. *paratuberculosis* (Map): bastoncellare, acido-alcool resistente, aerobio, immobile, non capsulato, non sporigeno- crescita lenta nei terreni culturali
- Ruolo Zoonosico di MAP - Morbo di Crohn dell'uomo
- ha incidenza maggiore laddove è stato risolto il problema tubercolosi
- Si ha un aumento costante della sua diffusione a prescindere dal contesto geografico

# DIFFUSIONE

- La Paratubercolosi rappresenta una delle malattie infettive più importanti per l'ampia diffusione nel mondo
- Arreca danni agli allevamenti, in particolare bovini
- le carenze di tipo igienico-sanitario, le maggiori spinte dal punto di vista produttivo e la commercializzazione incontrollata di animali hanno favorito la diffusione dell'infezione e l'aumento di incidenza della malattia
- la prevalenza di allevamenti infetti varia dal 7% al 60%



# CARATTERISTICHE DEL MICRORGANISMO

- *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* è dotato di elevata resistenza nell'ambiente, dove può sopravvivere per periodi prolungati:
- 163 giorni nelle acque di fiume
- 270 giorni nelle acque stagnanti
- 517 giorni in acqua a pH neutro
- 11 mesi nelle feci bovine
- 1210 giorni nel suolo
- solo 7 giorni nelle urine.
- MAP non si moltiplica nell'ambiente, ma solo all'interno delle specie animali recettive, dove trova un habitat favorevole all'interno dei macrofagi.

# MANIFESTAZIONI CLINICHE

- Il periodo di incubazione della malattia può variare da alcuni mesi fino a 5 anni
- La malattia compare generalmente in animali di 3-5 anni di età, più frequentemente in prossimità del parto
- Modalità di trasmissione:
- Ciclo oro-fecale (alimenti e acqua contaminati)
- Via verticale: in utero e post-natale (colostro)
- Fonti di infezione: feci, latte, pascolo, mezzi di trasporto, mammella contaminata
- L'eliminazione dell'agente eziologico con secreti ed escreti è in alcune fasi della malattia intermittente

## ParaTBC- importanza economica

- la paratbc ha un forte impatto economico:
- Danno diretto quantificabile dall'allevatore con l'eliminazione degli animali con forme cliniche
- Rimonta dei capi superiore a quella degli allevamenti non infetti
- Diminuzione delle produzioni latte stimata tra 8- 25% maggiore predisposizione degli animali a contrarre la malattia - del 5-15% nei casi con infezione subclinica
- Utilizzo di farmaci prima della diagnosi che contribuisce al problema della antibiotico resistenza
- Vincoli sanitari al commercio degli animali da vita e provvedimenti di Polizia Veterinaria imposti dal Piano Nazionale
- Diminuzione del valore economico dell'animale



## Para TBC bovina – danni economici

- Nei bovini da carne l' infezione subclinica porta:
  - una significativa diminuzione dell'incremento ponderale (-13%)
  - un peggioramento sia dell'indice di conversione degli alimenti
  - mediocre valutazione della carcassa al macello
  - perdite indirette per l'esecuzione dei piani di controllo e risanamento
  - costo del personale veterinario
  - costo test diagnostici

# Para TBC: forma sub clinica

- forma silente o frusta è presente > del 50% dei capi
- Sintomatica: forma classica tra 1-5%
- Indipendentemente dalla forma clinica si ha:
  - ipogalassia-perdita del peso corporeo-
  - ipofertilità-mastopatie- anemia-
  - tenesmo e diarrea profusa-
  - disidratazione-edema intermandibolare
  - -decubito permanente etc.

# Para TBC bovina: diagnosi

- Uno degli ostacoli maggiori al controllo della Paratubercolosi è rappresentato dalla difficoltà di una diagnosi certa d'infezione, legata alla scarsa sensibilità dei test diagnostici
- **Problema: identificare gli animali infetti, asintomatici, ma eliminatori**
- In vita: dati anamnestici, segni clinici, esami di laboratorio
- Post mortem: reperti anatomopatologici e istologici- esami di laboratorio

# Para TBC bovina- diagnosi (test disponibili)

## Diagnosi diretta

- Esame microscopico (colorazione di Ziehl-Neelsen)
- Coltura: metodi tradizionali- radiometrici- fluorometrici
- PCR, RT-PCR

## Diagnosi indiretta

- Immunità umorale
  - ELISA
  - AGID
  - FDC
- Immunità cellulo-mediata
  - intradermoreazione
  - gamma -interferon

# Metodi diagnostici: esame microscopico: materiale feci

## vantaggi

- Rapido, economico, semplice
- applicabile unicamente su campioni prelevati da animali colpiti dalla forma clinica, non è idoneo ad individuare i soggetti eliminatori subclinici nell'ambito dei piani di controllo

## svantaggi

- Laboratorio
- Falsi positivi –
- Falsi +
- L'esito deve essere confermato con test sierologico, colturale, PCR

# Metodi diagnostici: esame colturale

## vantaggi

- L'esame colturale delle feci è quello che permette una diagnosi più affidabile
- presenta una sensibilità limitata (40-50%)
- dimostra una specificità assoluta

## svantaggi

- lunghi tempi di attesa per la risposta
- i frequenti inquinamenti che ne inficiano il risultato
- costi elevati
- la necessità di attrezzature e personale specializzato

# Biologia molecolare (PCR)

## vantaggi

- la PCR oggi utilizzata per la tipizzazione dei ceppi isolati in coltura
- per la diagnosi diretta su animali con forma clinica in allevamento ed al macello

## svantaggi

- allo stato attuale non permette di raggiungere risultati di sensibilità analoghi alle metodiche colturali

# Metodi indiretti: il test ELISA ed il test AGID

## ELISA

- test ELISA in allevamento infetto può variare, in funzione dello stadio di infezione, dal 15% (fasi iniziali asintomatiche con eliminazione fecale scarsa) all'87% (sintomatologia clinica in atto con eliminazione fecale molto elevata)

## AGID

- test di immunodiffusione in gel di agar (AGID), di semplice e rapida esecuzione, a fronte di una specificità ottima, presenta una bassa sensibilità, inferiore al test ELISA nelle fasi precliniche;
- per questo motivo se ne consiglia l'applicazione solo in animali con sintomatologia clinica in atto

# Skin test (intradermoreazione) e test del gamma-interferon

- test intradermico - vantaggi:
  - precocità di risposta
  - capacità di svelare le nuove infezioni negli animali giovani
  - facile da eseguire, basso costo
  - monitorare la diffusione dell'agente eziologico in allevamento
  - formulare un giudizio sulle misure di ordine igienico sanitario messe in atto a protezione dei vitelli

## Skin test (intradermoreazione) svantaggi

- gli animali in fase avanzata di infezione dimostrano un calo di reattività
  - test dimostra una scarsa correlazione con l'entità dell'escrezione fecale
- l'infezione da Map può essere causa di reazione para-allergica alla prova tubercolinica ed interferire quindi con i piani di eradicazione della tubercolosi bovina

- La vaccinazione, nonostante sia un mezzo economico per ridurre la percentuale di casi clinici di malattia, **in Italia l'uso del vaccino è vietato**, in quanto da numerosi inconvenienti:
  - - interferenza con la reazione della tuberculina bovina;
  - - sensibilizzazione ai test allergici e sierologici divengono inapplicabili sul soggetto vaccinato
  - gli unici metodi diagnostici utilizzabili rimarrebbero la coltura fecale e la PCR;
  - possibilità di lesioni al punto di inoculo;
  - patogenicità del vaccino per l'uomo in caso di inoculazione accidentale;
  - incompatibilità con un'ottica di eradicazione dell'infezione,

- Non esiste una terapia efficace in grado di eliminare l'infezione, anche se prolungata per lunghi periodi

- Ruolo zoonosico di Map nel Morbo di Crohn, viste le apparenti similitudini dei sintomi e delle lesioni
- Al momento non esistono elementi tali da confermare definitivamente questa ipotesi
- esistono studi che riportano un legame apparentemente evidente tra la malattia e Map ed altri che lo escludono.
- Le difficoltà nel chiarire il problema sono legate:
  - alle caratteristiche della malattia e del microrganismo
  - alla mancanza di un protocollo diagnostico standardizzato da adottare nelle ricerche
- Map è stato sospettato inoltre di essere l'agente causale di altre patologie, come la Scrofola, la Sarcoidosi, Colite Ulcerativa e il Diabete tipo 1

- **CONTROLLO**

- **Non esiste un test in grado di individuare con certezza l'infezione in ogni sua fase evolutiva**
- **Il valore individuale dei test è basso soprattutto in fase di infezione iniziale, asintomatiche e nelle forme sub-cliniche**

# L'impiego di nuovi test diagnostici

- L'impiego di nuovi test diagnostici complementari, non previsti dal controllo ufficiale delle normative vigenti nazionali ed UE
- offrirebbero un elemento in più per svelare i casi:
  - nella fase iniziale dell'infezione
  - Eliminando i casi subclinici o asintomatici
  - Ha un valore economico rilevante

- La soluzione desiderata dalla presente manifestazione di interesse pubblico ha un impatto socio-economico rilevante contribuendo alla:
  - riduzione dei costi di eliminazione di animali con la forma clinica
  - Meno vincoli sanitari nel commercio di animali da vita
  - Maggiore produzione del latte
  - Maggiore vita produttiva degli animali
  - Ridurre l'esposizione del microorganismo nell'uomo
  - contribuire alla risoluzione dell'ipotesi quale causa del MAP nella comparsa del Morbo di Crohn

# Grazie per l'attenzione

Dr. Francesco La Mancusa – Azienda Sanitaria Provinciale di Catania