

Centro Referenza Nazionale
della Tubercolosi da *M.bovis*

ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE
DELLA LOMBARDIA E DELL'EMILIA ROMAGNA
"BRUNO LEBERTINI"
ENTE SANITARIO DI DIRITTO PUBBLICO

LA NOSTRA
ESPERIENZA,
LA VOSTRA
SICUREZZA.

Aspetti critici nell'eradicazione della tubercolosi bovina

marco.tamba@izsler.it

 **Sommario**

- Percezione della malattia
- Prove di laboratorio
- Pascolo



2



La Tubercolosi bovina va eradicata!!

REGOLAMENTO DI ESECUZIONE (UE) 2018/1882 DELLA COMMISSIONE del 3 dicembre 2018 relativo all'applicazione di determinate norme di prevenzione e controllo delle malattie alle categorie di malattie elencate e che stabilisce un elenco di specie e gruppi di specie che comportano un notevole rischio di diffusione di tali malattie elencate

Allegato

Nome della malattia elencata	Categoria della malattia elencata	Specie elencate	
		Specie e gruppi di specie	Specie vettrici
Infezione da complesso <i>Mycobacterium tuberculosis</i> (<i>M. bovis</i> , <i>M. caprae</i> , <i>M. tuberculosis</i>)	B+D+E	<i>Bison</i> ssp., <i>Bos</i> ssp., <i>Bubalus</i> ssp.	
	D+E	<i>Artiodactyla</i> diversi da <i>Bison</i> ssp., <i>Bos</i> ssp., <i>Bubalus</i> ssp.	
	E	<i>Mammalia</i> (terrestri)	

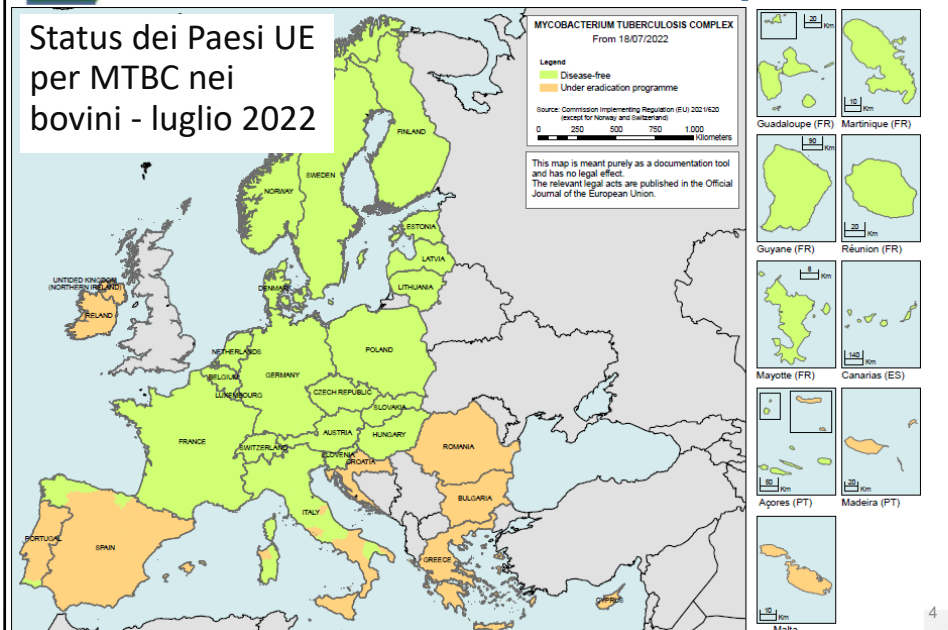
Complesso *Mycobacterium tuberculosis* (MTBC): ***M. tuberculosis***, *M. africanum*, *M. orygis*, ***M. bovis*** e il ceppo BCG, *M. microti*, *M. canetti*, ***M. caprae***, *M. pinnipedii*, *M. suricattae*, *M. mungi*

3



Tubercolosi bovina in Europa

Status dei Paesi UE per MTBC nei bovini - luglio 2022

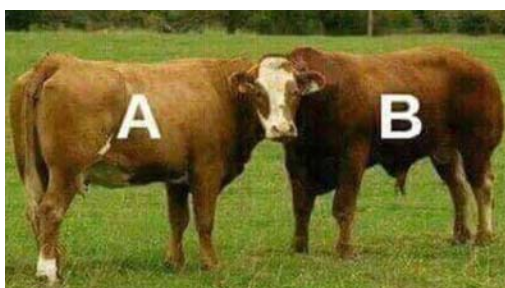


4



Tubercolosi Bovina

- Nei territori NON INDENNI
 - **B+D+E** (da eradicare)
- Nei territori INDENNI
 - «**quasi A**»+D+E (da (ri)eradicare tempestivamente)



5



Territorio indenne da MTBC (Reg.Del. UE 2020/689, Allegato IV)

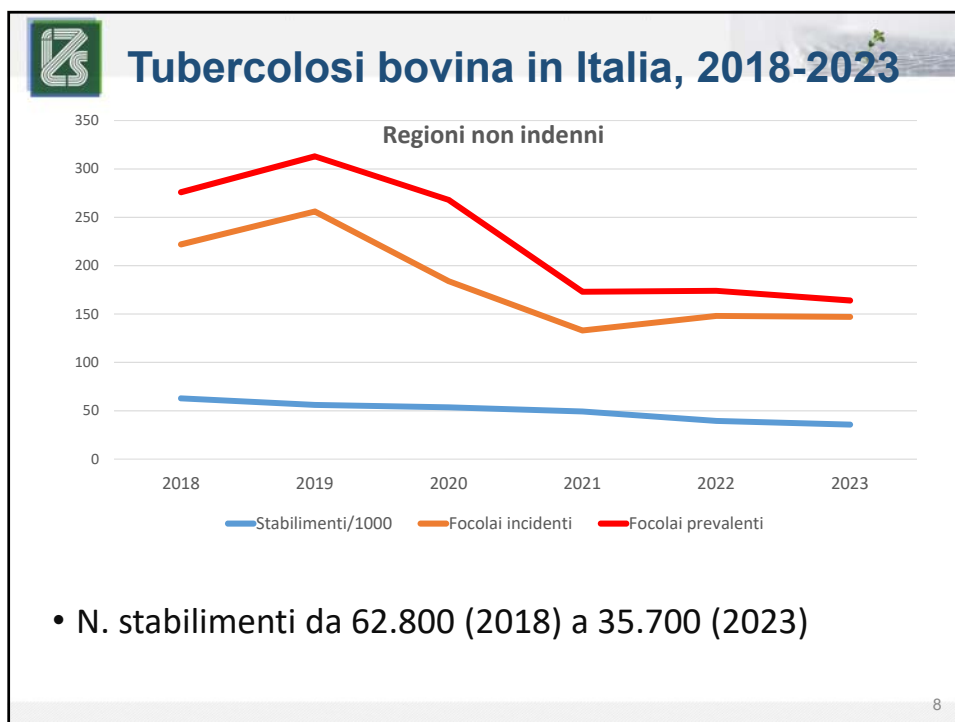
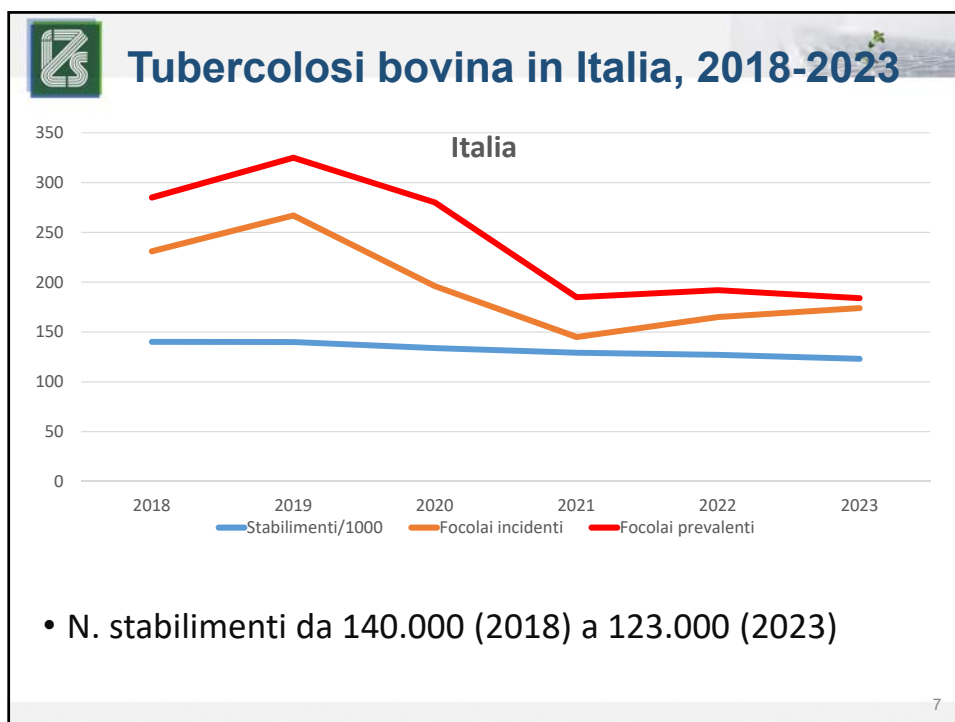
Parte II, Cap. 2 - Stato membro o zona indenni da infezione da MTBC

Sezione 1 - **Concessione** dello status per quanto riguarda i bovini detenuti

Lo status di indenne da infezione da MTBC per quanto riguarda i bovini detenuti può essere concesso a uno Stato membro o a una zona solo se:

- a) **negli ultimi tre anni** almeno il **99,8%** degli stabilimenti che detengono bovini, pari ad almeno il **99,9%** della popolazione bovina, ha mantenuto lo status di indenne da infezione da MTBC e il tasso di incidenza degli stabilimenti per cui è stata confermata l'infezione nel corso dell'anno non ha superato lo **0,1%**; e
- b) negli ultimi tre anni sono state applicate le **prescrizioni generali per la sorveglianza** sull'infezione da MTBC nei bovini detenuti, comprendenti almeno:
 - i) la ricerca sistematica, tramite la sorveglianza ante e *post mortem*, di lesioni riconducibili all'infezione da MTBC in tutti i bovini macellati;
 - ii) indagini sulle lesioni potenzialmente riconducibili all'infezione da MTBC.

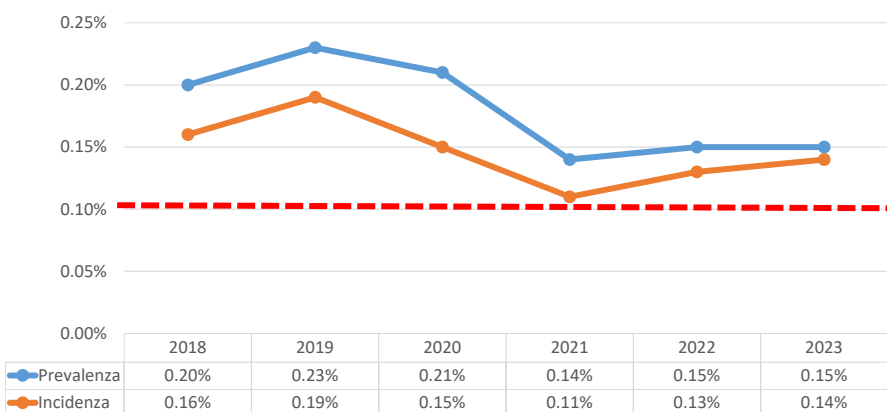
6





Tubercolosi bovina in Italia, 2018-2023

Prevalenza e Incidenza nazionale di Tubercolosi bovina (Vetinfo.it)



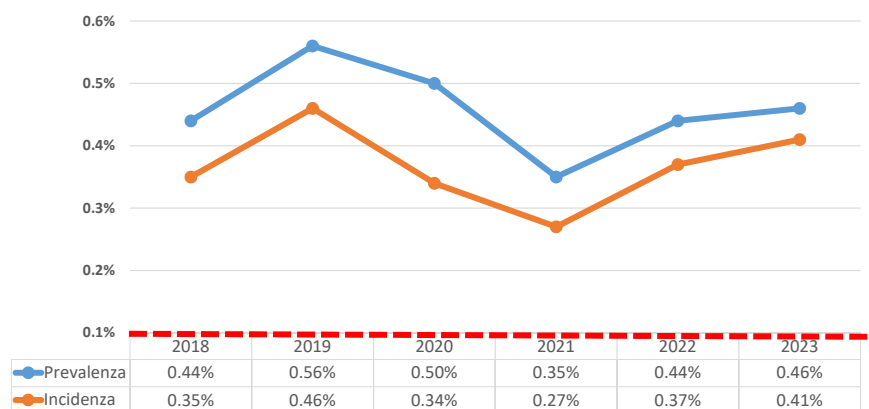
Cruscotti Vetinfo.it al 29/11/2023

9



Tubercolosi bovina in Italia, 2018-2023

Prevalenza e Incidenza di Tubercolosi bovina nelle zone non indenni (Vetinfo.it al 29/11/2023)



10



Mantenimento status

- Mantenere un efficace sistema di sorveglianza precoce
- Continuare a rispettare i parametri di incidenza e di percentuale di stabilimenti (e capi) indenni



11



Sorveglianza ed eradicazione della Tubercolosi Bovina

Eradicazione infezione da MTBC

Sorveglianza al macello

Controlli diagnostici sugli
bovini che si movimentano tra
stabilimenti

Controlli diagnostici di
stabilimenti (verifica status)

AC, Lab., Sistema I&R, Formazione, Sistema informativo

12



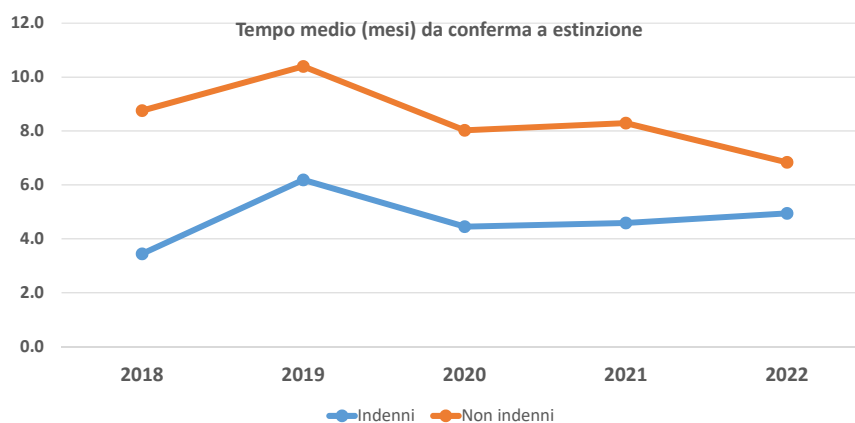
Mantenimento status

- Le malattie infettive non completamente eradiccate (es. peste bovina) **ritornano**
- Cosa fare se si rileva un focolaio (in territorio indenne)?
 - Dimostrare che l'infezione è di recente introduzione (indagine epidemiologica)
 - Chiudere rapidamente i focolai (depopolamento)
 - Controllare rapidamente tutto il patrimonio per dare evidenza che l'infezione è limitata ai (pochi) focolai già individuati

13



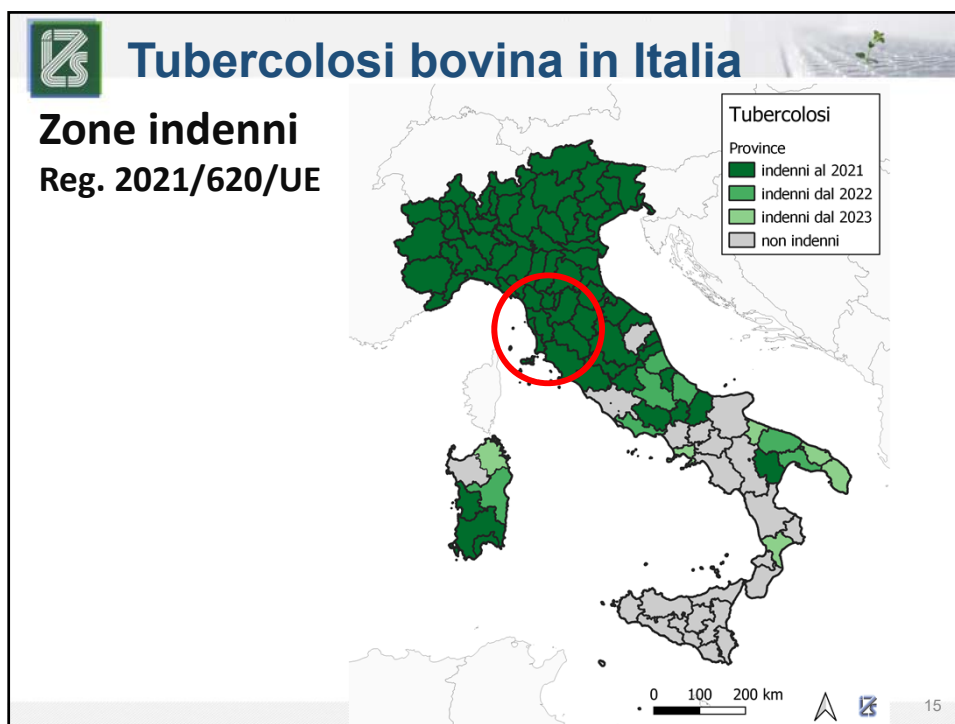
Tempi medi estinzione focolai MTBC



Fonte: SIMAN

- Nei territori non indenni i focolai rimangono attivi mediamente due mesi in più

14



Controlli Commissione UE

DG Health and Food Safety

Health and food audits and analysis programme 2024

- Monitorare l'applicazione dei requisiti del Reg. Esec. (UE) 2021/620 e **verificare l'attendibilità delle dichiarazioni** degli Stati membri sull'assenza di malattie e sulla loro attuazione dei programmi di eradicazione
- Control 2024: Italy (brucellosis)

Policy area	Priority theme	Country status/ entity	Objectives 2021-2025	Controls 2024
Category B and C diseases under Animal Health Law	Tuberculosis, brucellosis	Member States	To verify Member States' compliance with the applicable EU legislation governing the control of zoonotic diseases, with a particular focus on the level of implementation and effectiveness of the EU co-financed eradication programme, and the implementation of official controls thereon. ➤ In 2 - 4 Member States with an approved national control programme and difficulties to control zoonotic diseases.	
	Fish diseases			1 audit: France
	Stams for B and C diseases		To monitor the application of the requirements in Council Implementing Regulation 2021/620 and verify the reliability of Member States' declarations on disease freedom and on their implementation of eradication programmes. ➤ periodic questionnaires and up to 3 controls per year with a view to cover all Member States over a period of 7-10 years	3 controls: Austria (bovine tuberculosis), Italy (brucellosis) and Spain (bovine tuberculosis)

16



Prove diagnostiche ufficiali

(Reg. 2020/689, Allegato III)

Metodi diagnostici **per la concessione e il mantenimento dello status di indenne da malattia** per determinate malattie degli animali terrestri

Sezione 2 - Infezione da MTBC

1. Prove di intradermoreazione alla tubercolina:

- a) intradermotuberculinizzazione unica (IDT);
- b) intradermotuberculinizzazione comparativa (IDT-C).

2. Prova del gamma-interferone. (G-IFN o IGRA)

Sono tutti **metodi diagnostici indiretti**

17



Prove diagnostiche Tubercolosi

Riassunto dei risultati della meta-analisi svolta ai fini della definizione di sensibilità e specificità delle prove diagnostiche per la tubercolosi bovina

Nome del test	Sensibilità		Specificità	
	Mediana	Intervallo di credibilità 95%	Mediana	Intervallo di credibilità 95%
In vivo				
Prova tubercolinica singola	0.94	0.49 – 1.00	0.91	0.70 – 1.00
Prova tubercolinica comparativa	0.61	0.37 – 0.82	1.00	0.99 – 1.00
Prova gamma-interferon con PPD bovina e aviaria	0.67	0.49 – 0.82	0.98	0.96 – 0.99
Post mortem				
Ispezione <i>post mortem</i>	0.71	0.38 – 0.92	1.00	0.99 – 1.00
Necropsia eseguita in laboratorio	0.96	0.82 – 1.00		Non calcolata
Isolamento <i>M.bovis</i>	0.74	0.46 – 0.94	0.73	0.73 – 1.00

EFSA JOURNAL

Opinion

Scientific Opinion on the use of a gamma interferon test for the diagnosis of bovine tuberculosis



Volume 10, Issue 12
December 2012
2975

<https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.2903/j.efsa.2012.2975>

18



Prova del gamma-interferone (IGRA)

• Vantaggi

- Prova di laboratorio (standardizzata, indipendente da pressione ambientale)
- Richiede un solo intervento in allevamento
- Impiega in parallelo PPD bovina e aviare
- Più precoce rispetto alla IDT



• Svantaggi

- Prova nuova (bisogna imparare ad usarla)
- Il sangue deve arrivare vitale in laboratorio (entro 8 ore dal prelievo)
- Deve essere lavorato immediatamente (2 turni ?)
- Bassa capacità di laboratorio (ca. 100 campioni/die)
- Costoso

19



Indicazioni sull'uso delle prove 2. IGRA

- La prova del **gamma-interferon (IGRA)**, data la sua alta sensibilità, è indicata nelle **operazioni di risanamento dei focolai**, possibilmente in associazione con la prova tubercolinica singola.
- è indicata anche nei controlli in stabilimenti indenni che hanno avuto **riscontro di lesioni al macello**, possibilmente in associazione con la prova tubercolinica singola
- Può essere utilizzata anche per il **controllo pre-movimentazione, soprattutto in caso di animali detenuti allo stato brado** (indocili e difficili da catturare e contenere).

Per evitare che l'esito della inoculazione della tubercolina interferisca con gli esiti della prova, Si raccomanda che il test IGRA sia effettuato trascorsi **almeno 60 giorni** dall'ultima prova tubercolinica. In caso di prove associate il prelievo di sangue deve essere effettuato prima dell'inoculazione della tubercolina.

20



Caso confermato di Tubercolosi Bovina

Reg.Del. UE 2020/689

Art. 9 (Definizioni di caso)

2. L'autorità competente classifica un animale o un gruppo di animali come un **caso confermato di malattia** quando:

- a) in un campione prelevato da un animale o da un gruppo di animali **è stato isolato l'agente patogeno**, (ad eccezione dei ceppi vaccinali);
- b) in un campione prelevato da un animale o da un gruppo di animali che **presentano segni clinici compatibili con la malattia o una connessione epidemiologica con un caso sospetto o confermato è stato individuato un antigene o un acido nucleico** specifico dell'agente patogeno, (non derivante dalla vaccinazione); oppure
- c) in un campione prelevato da un animale o da un gruppo di animali che **presentano segni clinici compatibili con la malattia o una connessione epidemiologica con un caso sospetto o confermato è stato ottenuto un risultato positivo**, (non derivante dalla vaccinazione,) **utilizzando un metodo diagnostico indiretto**.

21



Definizione caso di tubercolosi bovina

(DM 27/01/2023. All.3 Piano eradicazione MTBC 2023
approvato trasmesso alle Regioni da DGSAF l'11/01/2023)

2. L'autorità competente classifica un animale o un gruppo di animali come **caso confermato di MTBC** quando:

- a) il MTBC è stato isolato da un animale o da un gruppo di animali;
- b) un antigene o un acido nucleico specifico della MTBC è stato identificato in un campione di un animale o di un gruppo di animali che presenta segni clinici (**cachessia, emottisi, lesioni tubercolari**) o un legame epidemiologico con un caso sospetto o confermato; o
- c) è stato ottenuto un risultato positivo da IDT o gamma-interferone da un animale o da un gruppo di animali che presentano segni clinici (**cachessia, emottisi, lesioni tubercolari**) o un nesso epidemiologico con un caso sospetto o confermato

22



Test conferma post mortem

- Ispezione *post mortem*
- Esame colturale



NON SONO GOLD STANDARD!

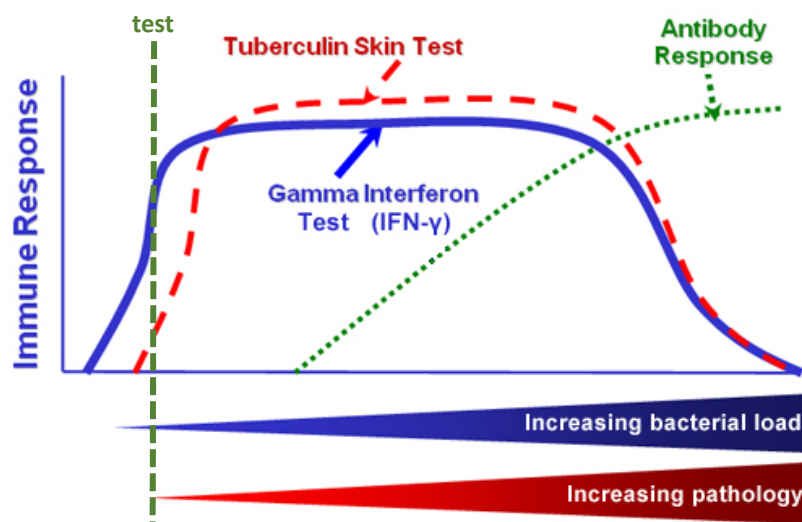
Ma test diagnostici con una loro Sensibilità e Specificità SE inferiore ai test indiretti; SP considerata 100%

- PCR
- Esame istopatologico

23



Infezione da MTBC nel bovino



(taken from Pollock & Neill, 2002) <https://www.bio-rad-antibodies.com/cow-cytokines-bovine-tuberculosis.html>



Conferma all'ispezione *post mortem*

- Nel Regno Unito (IDTc) il **50-60%** dei bovini positivi alla prova tubercolinica risulta essere NVL al macello.
- Gli animali positivi alla prova tubercolinica in focolai già dichiarati hanno una probabilità doppia di essere NVL rispetto a capi positivi di allevamenti indenni;
- In Spagna (IDTs), il **77,4%** dei bovini positivi alla prova tubercolinica e provenienti da focolaio è NVL;
- In oltre il **95%** degli animali positivi alla prova tubercolinica, ma NVL, non c'è conferma alle prove di laboratorio (isolamento o istopatologia)

25

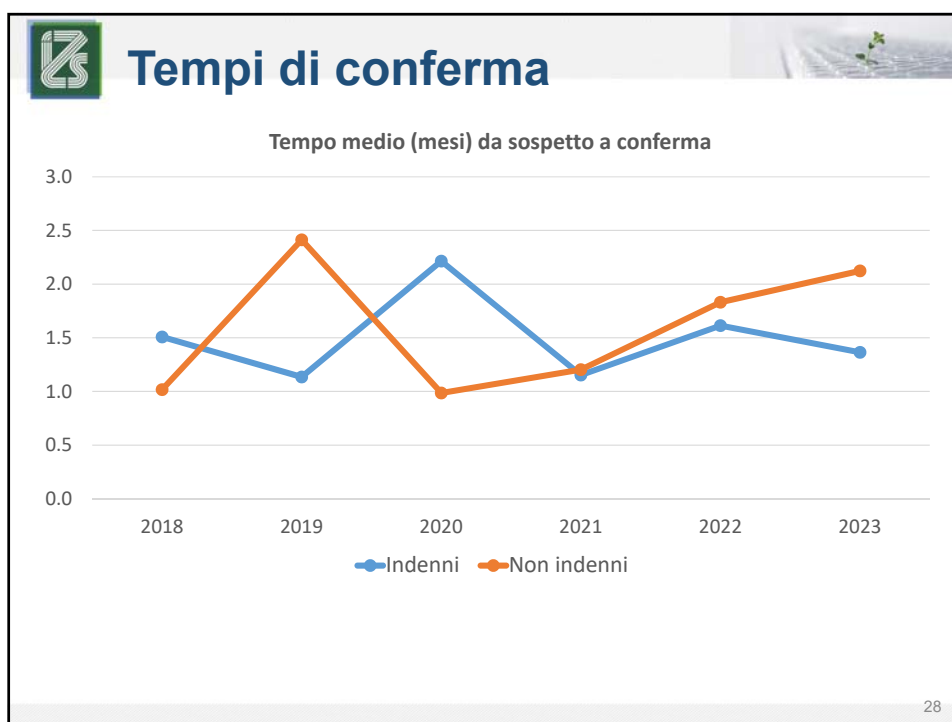
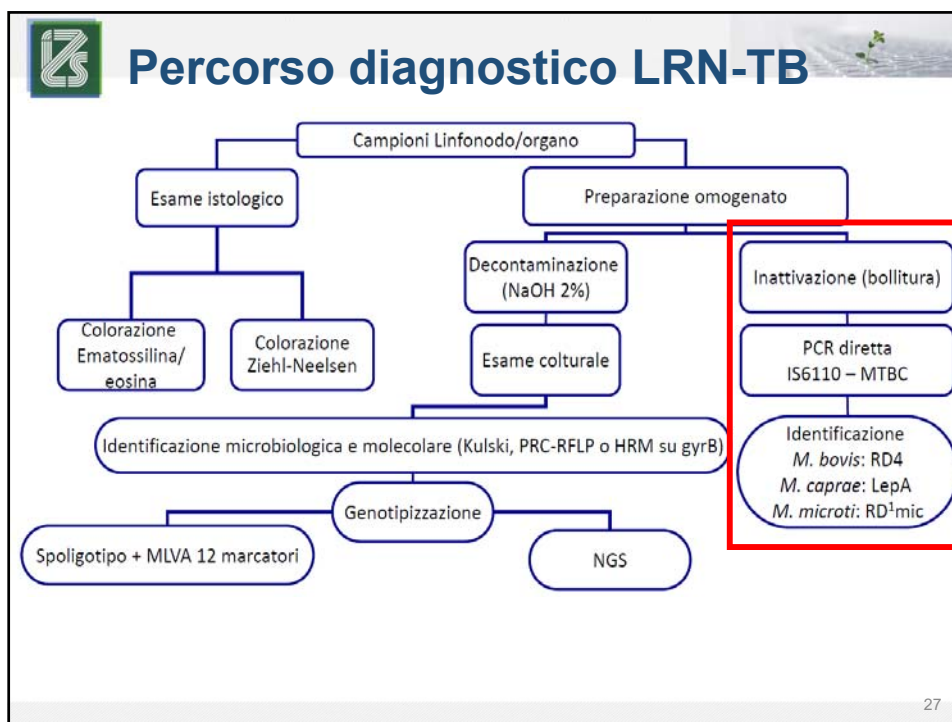


Conferma laboratorio

- MTBC è zoonotico (richiede laboratorio BSL3)
- Crescita lenta (da 6 a 12 settimane)
- Se sovraccaricate il laboratorio i tempi di risposta si allungano.

Evitare l'**accanimento diagnostico**: una volta che il focolaio è stato confermato microbiologicamente non è più necessario chiedere test di laboratorio sui positivi macellati

26





Non solo isolamento

- Oltre all'isolamento (2a)
- Sono casi di infezione confermata anche
 - I bovini con lesioni al macello risultati positivi alla PCR (2b: segni+ac.nucleico)
 - I bovini dubbi/pos. alle prove diagnostiche con lesioni al macello (2c: segni+pos. alle prove)
 - I bovini dubbi/pos. alle prove diagnostiche dello stabilimento di origine di un capo con lesioni al macello (2c: collegamento epidemiologico+pos. alle prove)
 - I bovini dubbi/pos. alle prove diagnostiche in due stabilimenti tra loro epidemiologicamente correlati (2c: collegamento epidemiologico+pos. alle prove)

29

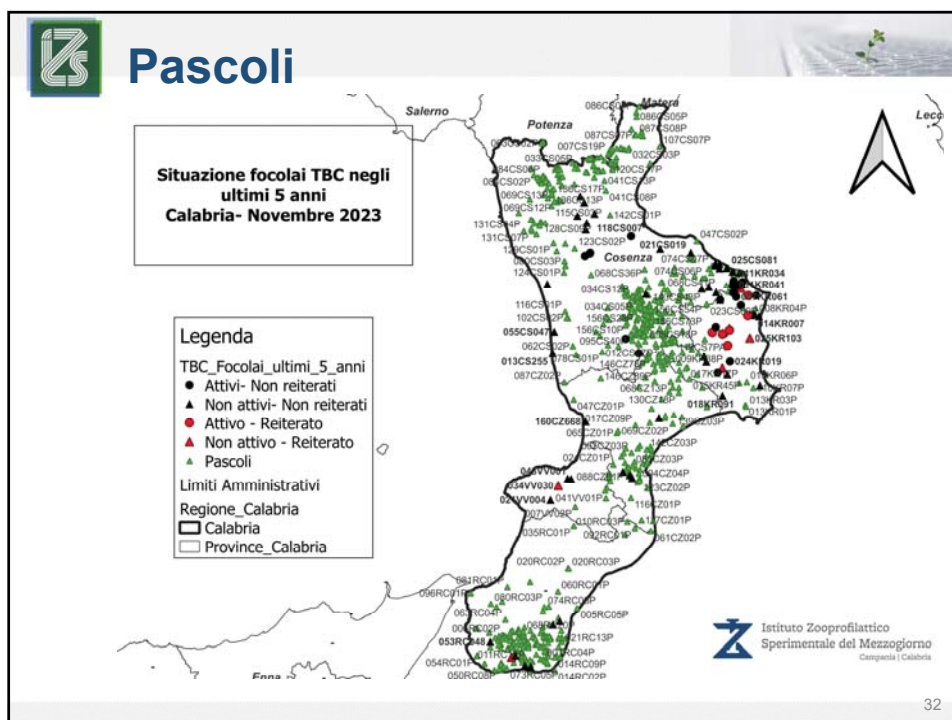
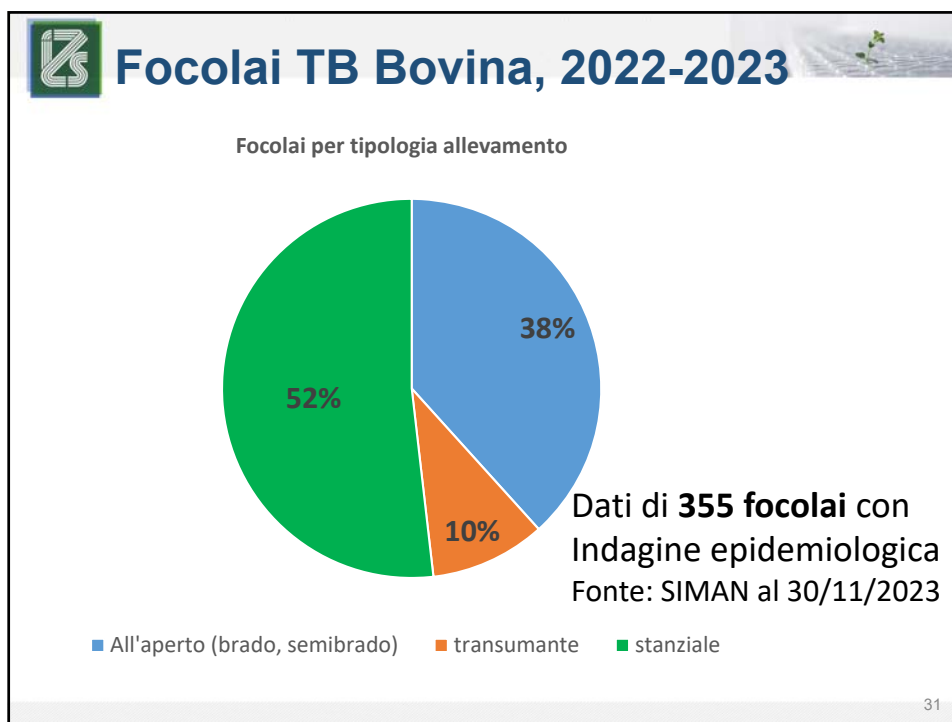


Focolai TB Bovina 2023



- I focolai di bTB sono raggruppati (cluster)
- Componente geografica

30





Pascolo (ping-pong «all'americana»)



Aggredire i «cluster» nel loro insieme

33



Pascoli

- Sono stabilimenti (Reg. UE 2016/429, art. 7, punto 27)
- Gli va assegnato uno status
- Sono poligoni e non punti (individuazione pascoli confinanti). Vanno tutti georeferenziati
- Vanno definite ed applicate procedure per la gestione dell'infezione da MTBC (focolai aperti al pascolo):
 - individuare gli allevamenti correlati (unità epidemiologica) che devono essere tutti considerati casi sospetti
 - Controlli al pascolo? Stalle contumaciali?
 - Misure di mitigazione del rischio (recinzione?)
 - Tempi per il riutilizzo del pascolo infetto
 - Animali selvatici ?

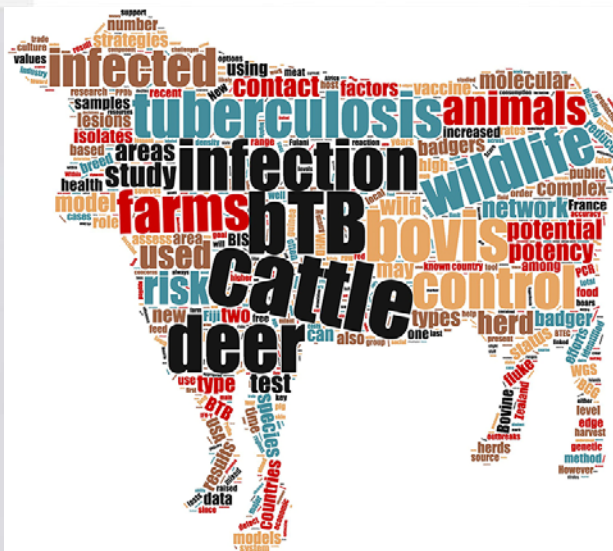
34

Conclusioni

- La tubercolosi bovina va eradicata, mentre pare in espansione in Italia
- L'eradicazione della tubercolosi è incompatibile con il definanziamento del SSN/SSR
- Formazione ai veterinari ufficiali per utilizzare al meglio le «nuove» prove diagnostiche
- LG per la gestione della malattia al pascolo
- Miglioramento continuo del sistema di sorveglianza:
 - **Rilevazione precoce** degli allevamenti infetti (Fattori di rischio? Indagine epidemiologica? Pascolo? Sorveglianza al macello? Formazione?)
 - **Riduzione tempi per il risanamento** focolai (IGRA? abbattimento totale? Integrazione indennizzi? Premi PAC?)

35

Grazie per l'attenzione



marco.tamba@izsler.it