



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

Istituto Zooprofilattico Sperimentale Lazio e Toscana “M. Aleandri”

LEUCOSI BOVINA ENZOOTICA: AGGIORNAMENTI, APPLICAZIONE DEL PIANO DI PROFILASSI E RICADUTE SUL TERRITORIO

Viterbo 4 maggio 2017





**In Italia è stata introdotta alla fine degli
anni '60, quando la Germania e la Francia
eliminavano gli animali siero positivi e noi
non chiedevamo alcuna certificazione per
la leucosi.**





**La leucosi bovina enzootica è una
malattia contagiosa che colpisce
bovini e bufalini
NON È UNA ZOONOSI**



DANNI ECONOMICI

- **Blocco della commercializzazione nazionale ed internazionale degli animali**
- **deprezzamento degli animali (elevata genealogia)**
- **Costi del piano di eradicazione**





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

**rischio per prodotti alimentari
destinati all'uomo
in particolar modo nel latte**



EZIOLOGIA

- **Famiglia: retroviridae**
- **Genere: delta retrovirus**
- **Gruppo: BLV-HTLV (bovine leukemia virus-human T cell lymphotropic virus)**
- **RNA monocatenario (2 molecole/virione)**
- **Provisti di envelope con proiezioni di \varnothing 8 nm**
- **\varnothing 80-100 nm**
- **Relativamente resistenti ai raggi UV**
- **Integrazione nel DNA cellulare**



PROPRIETÀ ANTIGENICHE

- **Le proteine del virione contengono determinanti gruppo specifici e tipo-specifici**

– GRUPPO SPECIFICI

- **proteine del capsido, solitamente utilizzate nella diagnosi (p12, p15, p24)**

– TIPO SPECIFICI

- **glicoproteine dell'envelope, coinvolte nella produzione di Ac SN (gp30, gp51)**

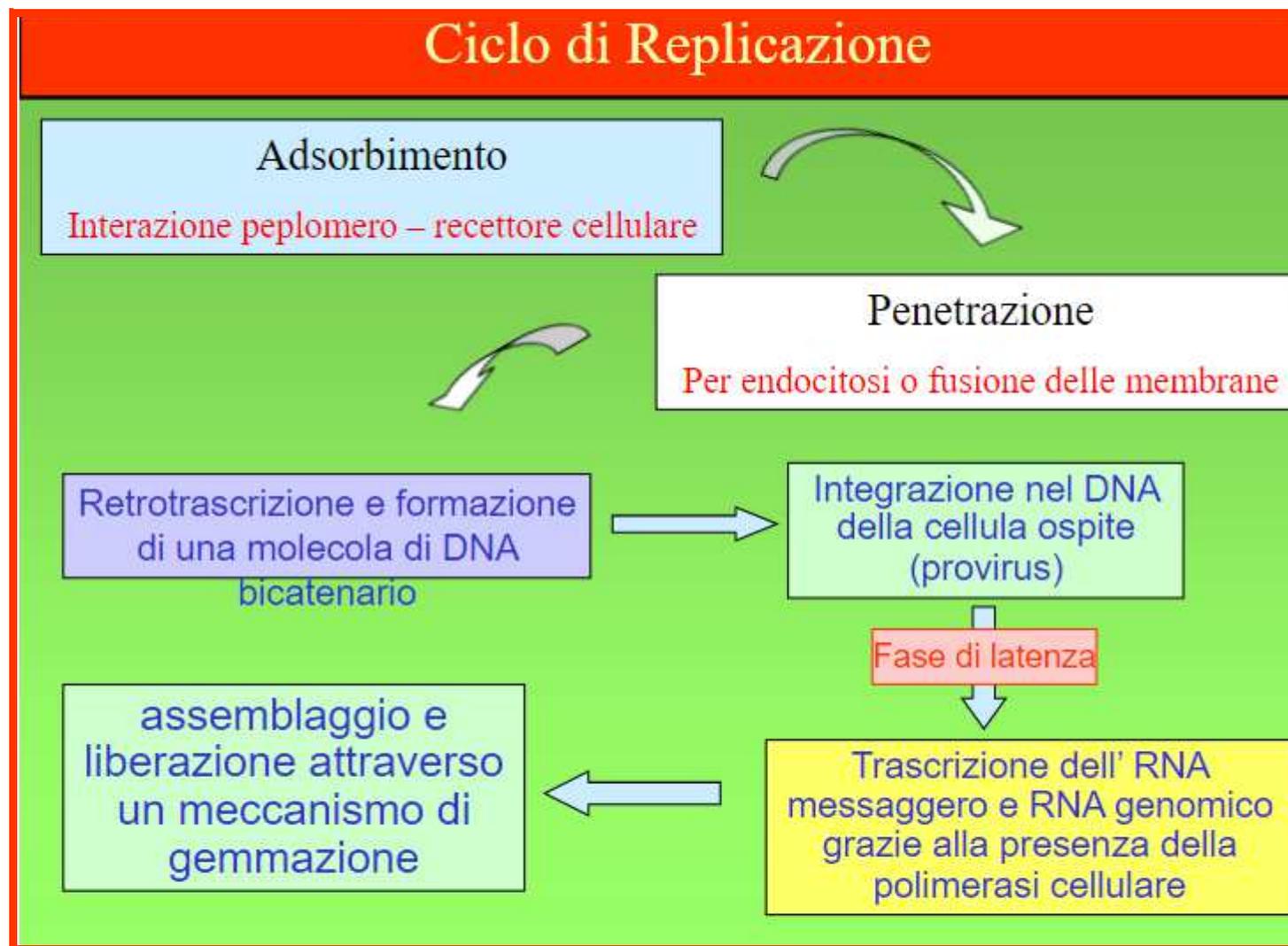
- **Variabilità genetica molto accentuata dovuta al gene env**

- **Ruolo della trascrittasi inversa**





Ciclo di Replicazione



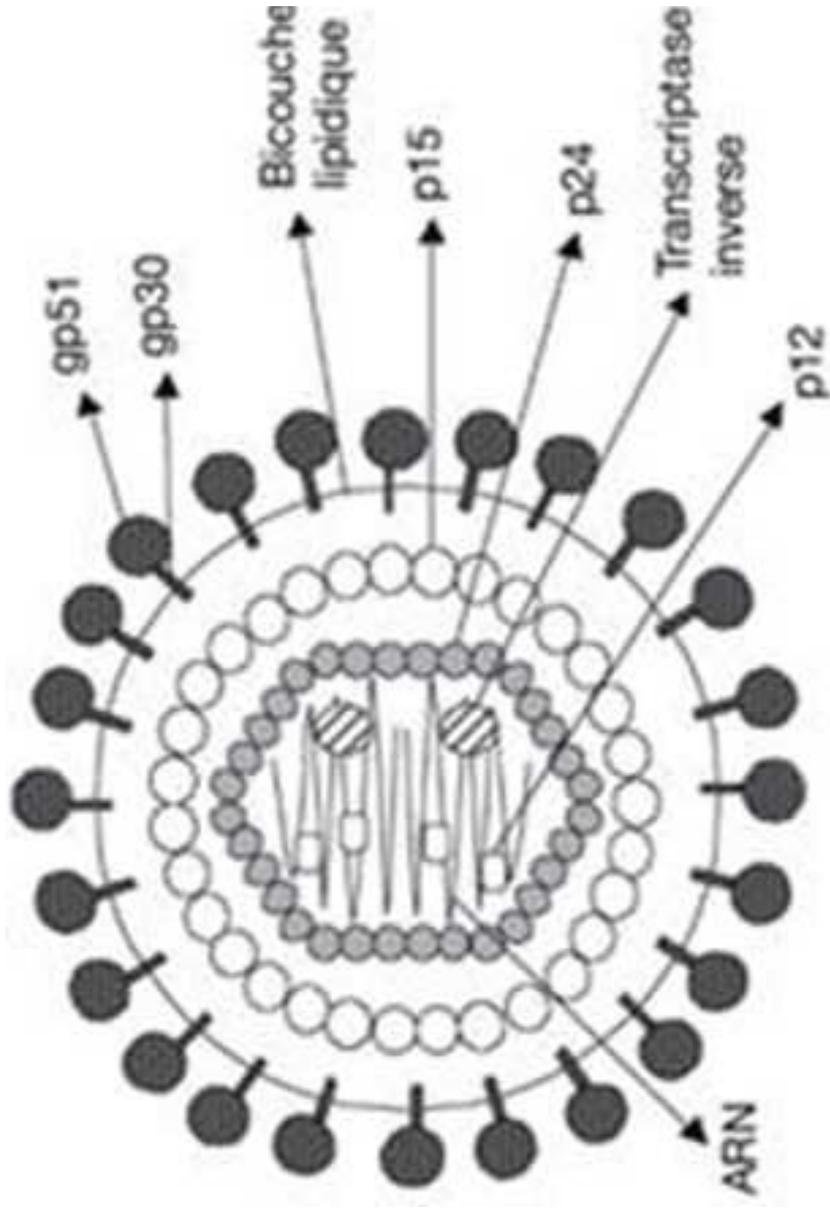


Figure 1. Structure de la particule virale BLV – *Structure of BLV viral particule (Ueckert et al., 1984).*



EZIOLOGIA

- **Mammalian type B retrovirus – virus del Tumore mammario del Topo**
- **Mammalian type C retrovirus – virus della leucemia del gatto**
- **Avian type C retrovirus – virus della leucosi aviare**
- **Type D retrovirus – virus di Mason-Pfizer**



EZIOLOGIA

- **BLV-HTLV retrovirus – virus della leucosi bovina**
- **Lentivirus – virus dell'immunodeficienza umana tipo 1**
- **Spumavirus – spumavirus dell'uomo**



EPIDEMIOLOGIA

**trasmissione attraverso contatto diretto prolungato
fra animali infetti e sani**

- **scambio di sangue, essudati o tessuti**
- **tramite aghi contaminati, strumenti chirurgici o zootecnici
(infezione iatrogena)**
- **trasmissione verticale da madre a figlio o attraverso il seme
(importanza minore)**
- **non del tutto confermata la trasmissione attraverso gli insetti
ematofagi**





Resistenza:

- scarsamente resistente nell'ambiente esterno**
- nei linfociti presenti nel latte**
- resiste per 3gg nel latte non pastorizzato (non è trasmesso all'uomo- non è zoonosi)**
- inattivato a 56°C dopo 30 minuti (scomplementarizzazione dei sieri per 15 minuti: non è distrutto);**
- inattivato a 60° in 1 minuto.**
- la pasteurizzazione distrugge sempre il virus**





Il virus della Leucosi Bovina Enzootica determina una risposta anticorpale umorale che non blocca la sua replicazione nell'ospite e quindi dà luogo ad un'infezione cronica

Dopo un lungo periodo di incubazione si può avere una manifestazione clinica della malattia con presenza di linfosarcomi

La letalità degli animali in allevamento non è molto elevata (2-5%)



PATOGENESI

Malattia bifasica con un lungo periodo d'incubazione

- **linfocitosi persistente (ovvero aumento dei linfociti circolanti) o formazione di linfosarcoma**
- **gli animali con linfocitosi persistente non mostrano segni clinici; quelli con linfosarcoma hanno sintomatologia che riflette la localizzazione del tumore**

Definita anche malattia «degli adulti»

la forma clinica si riscontra in animali di 4-5 anni di età

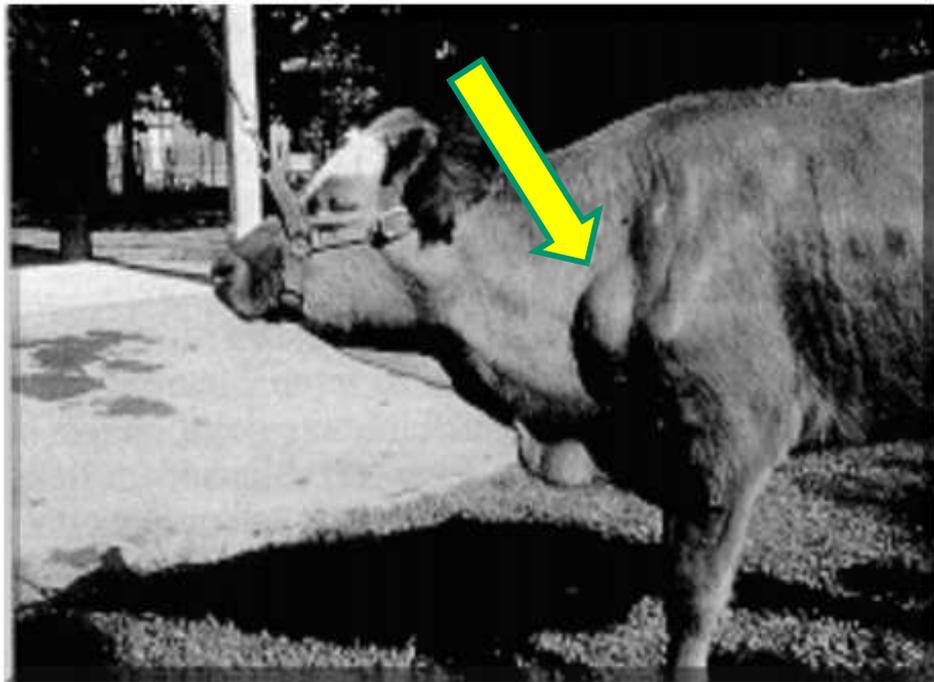
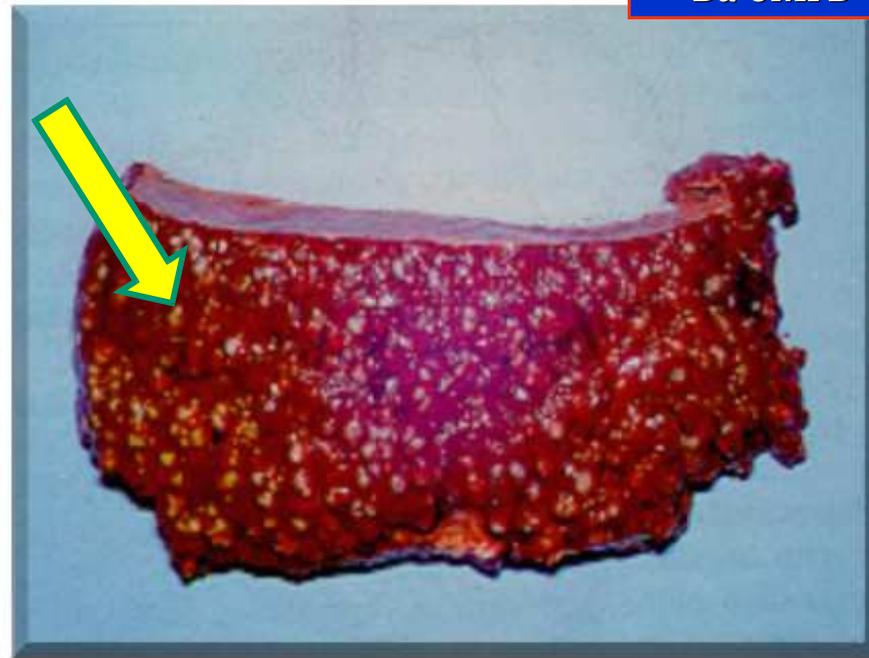


SINTOMATOLOGIA

- **0,4 -10% degli animali infetti presenta lesioni tumorali**
- **Linfadenomegalia: fino a 6-8 volte i valori normali, più frequente il solo coinvolgimento dei linfonodi presenti all'interno della cavità pelvica ed addominale**
- **Infiltrazione dei linfociti in vari organi (parete abomasale, miocardio, milza e reni)**



- Splenomegalia (iperplasia follicolare)
- Esoftalmo (infiltrazione linfoide retrobulbare)
- Adenopatia prescapolare





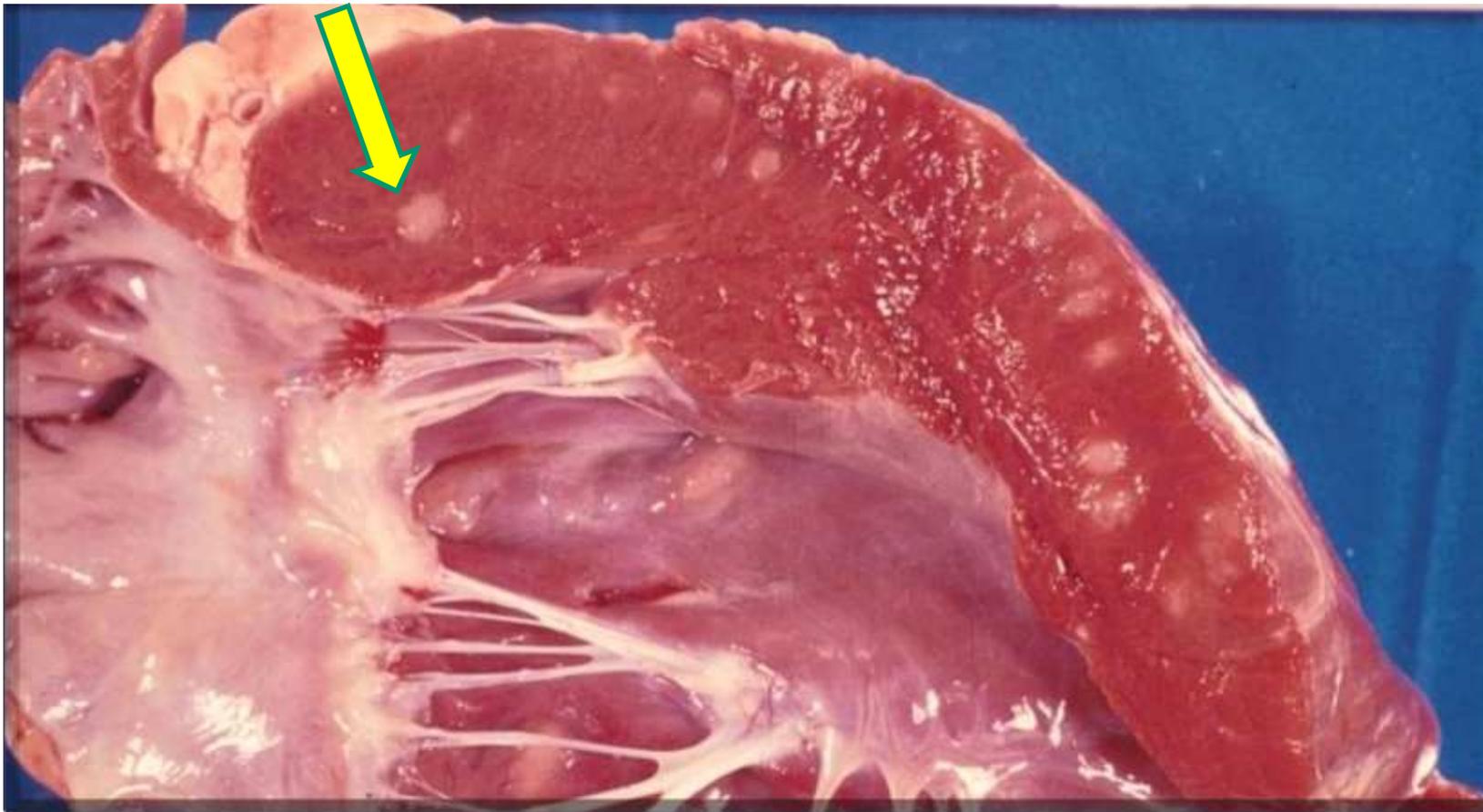
Linfonodi mesenterici:
linfosarcoma





Ingrossamento dei linfonodi prescapolari





Leucosi a carico del miocardio





Masse neoplastiche (linfosarcomi) intestinali



SORVEGLIANZA EPIDEMIOLOGICA

- **Nella UE è obbligatorio controllare periodicamente tutti gli allevamenti bovini e bufalini con un prelievo di sangue**
- **In Italia esiste un Piano Nazionale per l'eradicazione della Leucosi Bovina Enzootica (D.M. 2 maggio 1996, n. 358 modificato dal DM 12/08/1997 n.429) che stabilisce le misure sanitarie da applicare agli allevamenti di bovini e di bufalini dell'intero territorio nazionale per conseguire la eradicazione**





NORMATIVE ANTECEDENTI AL PIANO

- **OM n. 203 del 26 luglio 1982**
- **DM n. 227 del 26 settembre**
- **DM n. 432 del 25 settembre 1987**
- **DM n. 64 del 17 marzo 1992**





SORVEGLIANZA EPIDEMIOLOGICA

OBIETTIVI DEL PIANO

- **l'eradicazione della leucosi bovina enzootica dagli allevamenti bovini e bufalini**
- **la protezione degli allevamenti indenni dalla leucosi bovina enzootica**





SORVEGLIANZA EPIDEMIOLOGICA

ART. 2 DEL PIANO

- *f) eradicazione: l'eliminazione della leucosi bovina enzootica e del relativo agente eziologico dagli allevamenti bovini e bufalini tramite le opportune operazioni di profilassi*
- *h) animale infetto: quello che risponde positivamente agli esami sierologici come dal successivo art. 6, comma 1 (ELISA E AGID)*



ART. 3 DEL PIANO

- *1. L'eradicazione della leucosi bovina enzootica dagli allevamenti bovini e bufalini, è obbligatoria su tutto il territorio nazionale*

- *3. Con l'entrata in vigore del presente regolamento tutti gli allevamenti bovini e bufalini da riproduzione devono essere posti sotto controllo con l'obiettivo di acquisire entro il 1997 la qualifica sanitaria prevista dal presente regolamento. Tutti gli allevamenti e tutti i capi bovini e bufalini devono essere altresì identificati e registrati in modo da permettere di risalire all'allevamento o all'azienda di provenienza dei singoli*





ART. 5 DEL PIANO

➤ 5. I campioni di sangue o di latte dei bovini e dei bufalini da sottoporre a controllo, a cura della competente unità sanitaria locale, devono pervenire, adeguatamente conservati, esclusivamente all'istituto zooprofilattico sperimentale competente per territorio od alla relativa sezione diagnostica, nel più breve tempo possibile e comunque, di norma, entro la settantaduesima ora dal prelievo.



ART. 5 DEL PIANO

➤ 6. *L'istituto zooprofilattico sperimentale competente per territorio provvede all'esecuzione delle prove ufficiali sui campioni di cui al precedente comma 2, secondo le metodiche descritte nei punti A e B dell'allegato tecnico al presente regolamento. Detto istituto è tenuto a trasmettere gli esiti entro sette giorni dal ricevimento dei campioni. In caso di positività la risposta deve essere fornita con la massima celerità anche mediante il ricorso alla posta automatica.*



ART. 5 DEL PIANO

➤ ***9. L'istituto zooprofilattico sperimentale dell'Umbria e delle Marche, con sede in Perugia, è il centro di referenza per lo studio e la diagnosi della leucosi bovina enzootica.***

ART. 6 DEL PIANO

Animali infetti

➤ ***1. Un bovino o un bufalino è considerato infetto da leucosi bovina enzootica quando risulti positivo ad uno degli esami sierologici indicati nei punti A e B dell'allegato tecnico al presente regolamento.***



ART. 6 DEL PIANO

3. I veterinari preposti alla vigilanza e all'ispezione delle carni presso i macelli ed i locali di macellazione pubblici e privati, nei casi in cui riscontrino neoplasie negli organi e nel sistema linfatico all'ispezione di un animale macellato, devono:

a)

b) inviare idonei campioni di materiale patologico all'istituto zooprofilattico di competenza o al centro di referenza nazionale per l'esame istologico di cui al punto C dell'allegato tecnico al presente regolamento, o per altri tipi di esame utili per la diagnosi di leucosi bovina enzootica. Nell'eventualità che sia l'istituto zooprofilattico ad eseguire l'esame istologico, lo stesso deve segnalare periodicamente al centro di referenza i casi positivi riscontrati





ART. 7 DEL PIANO

1. Un allevamento bovino o bufalino e' considerato infetto da leucosi bovina enzootica qualora uno o piu' capi abbiano reagito positivamente alle prove sierologiche



ART. 7 DEL PIANO

Comma 2

- *a) isolamento o idonea separazione dei capi infetti;*
- *b) pulizia, disinfezione e disinfestazione periodica delle stalle e dei reparti occupati dai bovini o bufalini infetti;*
- *c) esclusione dalla monta dei bovini o bufalini infetti;*
- *d) obbligo di eliminare il colostro delle vacche e delle bufale infette oppure di risanarlo con idoneo trattamento prima di somministrarlo ai vitelli o agli annutoli;*
- *e) obbligo di bollire il latte delle vacche e bufale infette destinato all'alimentazione dei vitelli e degli annutoli;*



ART. 7 DEL PIANO

Comma 2

- *f) è vietato qualsiasi movimento di bovini o bufalini verso o da tale allevamento, salvo autorizzazione per l'uscita di capi destinati alla macellazione o a centri da ingrasso da rilasciarsi ai sensi del regolamento di Polizia veterinaria*
- *g) dopo l'isolamento di cui al punto a) gli animali devono essere marcati analogamente a quanto previsto per brucellosi e tubercolosi, dal decreto del Presidente della Repubblica 8 febbraio 1954, n. 320, o comunque conformemente alle norme emanate dal Ministero della Sanità*





ART. 7 DEL PIANO

Comma 4

I bovini e bufalini riconosciuti infetti di leucosi bovina enzootica devono essere abbattuti sotto il controllo ufficiale entro trenta giorni dalla notifica ufficiale; tale termine può essere prorogato fino ad un massimo di dodici mesi, quando il tasso di infezione nell'azienda sia pari o superiore al 30%.....



ART. 8 DEL PIANO

Comma 1

E' riconosciuto indenne da leucosi bovina enzootica un allevamento in cui:

a) nel corso degli ultimi due anni non è stato evidenziato e confermato alcun caso ne' clinico ne' anatomopatologico di leucosi bovina enzootica;

b) negli ultimi dodici mesi tutti i bovini e i bufalini di età superiore ad un anno sono stati sottoposti con esito negativo a due esami sierologici per la diagnosi della leucosi bovina enzootica, ad un intervallo di almeno quattro mesi;



ART. 8 DEL PIANO

Comma 1

c) i capi eventualmente introdotti nell'allevamento siano scortati da certificato sanitario comprovante che provengono da un allevamento riconosciuto indenne da leucosi bovina enzootica ai sensi del presente regolamento, e che sono stati sottoposti con esito negativo ad esame sierologico ufficiale nei trenta giorni precedenti il carico; negli allevamenti sotto controllo possono essere introdotti solo soggetti provenienti da allevamenti indenni.





ART. 8 DEL PIANO

Comma 2

La qualifica di allevamento indenne da leucosi bovina enzootica è mantenuta se non si riscontrano segni clinici o anatomopatologici riferibili alla presenza di leucosi bovina enzootica e tutti i capi di età superiore a dodici mesi reagiscono negativamente ad un controllo sierologico effettuato con cadenza annuale.



ART. 11 DEL PIANO

Province indenni da leucosi bovina enzootica

Comma 1

Il Ministro della sanità su richiesta delle amministrazioni regionali può dichiarare indenne da leucosi bovina enzootica il territorio delle singole province in cui:

a) tutti gli allevamenti presenti sul territorio sono sottoposti a controllo ufficiale e almeno il 99,8% degli allevamenti bovini o bufalini sono indenni da leucosi bovina enzootica; oppure:

b) nel corso degli ultimi tre anni non è stato denunciato e confermato alcun caso di leucosi bovina enzootica; e:



ART. 11 DEL PIANO



1) nel corso degli ultimi due anni i controlli sierologici ufficiali su base casuale praticati su tutto il territorio, effettuati in almeno il 10% degli allevamenti su tutti gli animali di età superiore a 24 mesi, abbiano dato esito negativo; e:

2) tutti gli animali di età superiore ai 24 mesi siano stati sottoposti con esito negativo ad un esame sierologico ufficiale, almeno una volta.



ART. 11 DEL PIANO

Province indenni da leucosi bovina enzootica

Comma 3

La qualifica è mantenuta quando, dopo aver soddisfatto le condizioni di cui al comma 1:

a) ogni anno, un sondaggio a campione randomizzato, che assicuri un tasso di probabilità del 99,8%, dimostri che meno dello 0,2% degli allevamenti è stato infettato; oppure:

b) ogni anno il 20% degli animali di età superiore a 24 mesi sia sottoposto a controllo ufficiale con esito negativo e sono soddisfatti i requisiti previsti all'art. 8.



ART. 11 DEL PIANO

Province indenni da leucosi bovina enzootica

Comma 4

Se la leucosi bovina enzootica è stata diagnosticata in più dello 0,2% degli allevamenti di una provincia, la qualifica di territorio indenne viene sospesa. Detta qualifica può essere ripristinata se gli esami ufficiali praticati nel corso di 12 mesi in almeno il 20% degli allevamenti su tutti i bovini e bufalini di età superiore a 24 mesi, danno esito negativo, oltre quanto previsto al successivo art. 12, comma 1.





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

2014



INDENNIZZI

Stabiliti per il 2016 dal Decreto 19 settembre 2016, n. 272

- **bovini abbattuti perché infetti da ... e da leucosi enzootica dei bovini è stabilita in € 473,81;**
- **per i bovini quando le carni ed i visceri debbono essere interamente distrutti è stabilita in € 869,00;**
- **bufalini abbattuti perché infetti da ... e da leucosi enzootica dei bovini è stabilita in € 408,43;**
- **per i bufalini quando le carni ed i visceri debbono essere interamente distrutti è stabilita in € 748,49;**



TABELLA INDENNITA' PER CATEGORIA, ETA' E SESSO DI CAPI DELLA SPECIE BOVINA INFETTI E ABBATTUTI O DISTRUTTI - ANNO 2016

CATEGORIA	Indennità spettante nella misura massima di € 473,81		Indennità spettante nella misura massima di € 869 nei casi in cui le carni e i visceri degli animali debbano essere interamente distrutti.	
	Iscritti al libro genealogico	Non iscritti al libro genealogico	Iscritti al libro genealogico	Non iscritti libro genealogico
VITELLO maschio e femmina	156,8	117,04	286,15	224,52
VITELLONE maschio..... femmina	// 308,62	147,3 223,31	// 570,23	243,33 423,04
MANZO maschio	//	159,6	//	234,51
femmina	427,5	309,27	781,85	592
BUE	//	109,63	//	209,17
VACCA Di età non superiore a 8 anni ... Di età superiore a 8 anni	473,81 439,87	371,50 349,66	869,00 811,13	673 641,40
TORO.....	136,41	//	224,81	//



TABELLA INDENNITA' PER CATEGORIA, ETA' E SESSO DI CAPI DELLA SPECIE BUFALINA INFETTE E ABBATTUTE O DISTRUTTE - ANNO 2016

CATEGORIA	Indennità spettante nella misura massima di € 408,43		Indennità spettante nella misura massima di € 748,49 nei casi in cui le carni e i visceri degli animali debbano essere interamente distrutti.
	Iscritti al libro genealogico	Non iscritti al libro genealogico	
VITELLO (BUFALO) maschio e femmina	127,34	100	189,10
VITELLONE (BUFALO) maschio..... femmina	// 233,73	106,66 186,27	176,57 353,65
MANZO (BUFALO) maschio	//	123,80	181,51
femmina	343,62	261,77	500,49
VACCA (BUFALO) Di età non superiore a 8 anni	408,43	340,06	614,12
Di età superiore a 8 anni	304,55	249,98	459,21
TORO (BUFALO).....	129,25	//	//





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

DIREZIONE OPERATIVA SIEROLOGIA

POS SIE 012 NOR rev. 7 del 31/12/2014

LEUCOSI (ELISA)





1. Scopo

Lo scopo della presente procedura è quello di descrivere le responsabilità e le modalità operative per la ricerca di anticorpi nei confronti del virus della Leucosi Bovina Enzootica su siero e sangue omissis bovino e bufalino mediante kit ELISA commerciali validati dal Centro di Referenza Nazionale per la Leucosi dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale Umbria e Marche di Perugia





2. Campo di applicazione

La presente procedura si applica a campioni di siero e sangue in singolo o pool di massimo 10 sieri *omissis* delle specie bovina e bufalina.

Il metodo fornisce risultati di tipo qualitativo.



6. Principio

Il principio su cui si basa la prova è l'ELISA, tecnica immunoenzimatica che prevede l'adsorbimento passivo di un antigene ai pozzetti di apposite piastre in plastica. Nei pozzetti così trattati vengono aggiunti i sieri in esame: se sono presenti anticorpi specifici, essi si combinano con l'antigene.

Si aggiungono poi delle anti-gammaglobuline marcate con un enzima perossidasi che, in presenza del complesso antigene-anticorpo, determinano la formazione di immunocomplessi marcati (antigene-anticorpo-anti-gammaglobuline).

Aggiungendo il substrato dell'enzima, detto cromogeno, e misurando la reazione colorimetrica mediante un lettore per micropiastre si ottiene il valore di densità ottica relativo a ciascun siero in esame.





8. Responsabilità

Il responsabile e i dirigenti della Struttura hanno la responsabilità di garantire e verificare la corretta applicazione della presente procedura e di affidare l'esecuzione della prova a personale abilitato.

Il personale incaricato ha la responsabilità della corretta applicazione della procedura in tutte le sue fasi.



10. Espressione dei risultati

Nel rapporto di prova i risultati sono così espressi: I campioni che risultano negativi – PROVA: LEUCOSI - TECNICA ELISA: TUTTI I CAMPIONI RISULTANO NEGATIVI (nel caso di negatività di tutti i campioni del gruppo esaminato). I campioni che risultano positivi (identificati con la matricola): PROVA: LEUCOSI - TECNICA ELISA: ESITO POSITIVO (nel caso di positività di tutti i campioni del gruppo esaminato) oppure I CAMPIONI NON IN ELENCO RISULTANO NEGATIVI (nel caso di positività di alcuni campioni del gruppo esaminato).





10. Espressione dei risultati

I campioni che risultano dubbi (identificati con la matricola):

“PROVA: LEUCOSI - TECNICA ELISA: ESITO NON CONCLUSIVO.

I campioni dubbi o i positivi appartenenti ad aziende ufficialmente indenni, sono inviati al CEREL e nelle note si inserisce: “Campione inviato al CEREL per conferma diagnostica”.





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

Struttura	2012	2013	2014	2015	2016	2017
	Analisi	Analisi	Analisi	Analisi	Analisi	Analisi
VT - Laboratorio Sierologia	60.363	69.113	61.497	66.770	67.393	8.807
Totale	60.363	69.113	61.497	66.770	67.393	8.807

▣ Dettaglio Analisi

Parametro Brancha selezionato:

Piano Eradicazione Brucellosi, Tubercolosi e Leucosi





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

GRAZIE PER L'ATTENZIONE

