

Studio sulla correlazione tra forme anatomopatologiche, genetica e ceppi di Map nella paratubercolosi ovina

N. identificativo progetto: IZS LT 04/13 RC

RAZIONALE DEL PROGETTO

La Paratubercolosi (PTBC) è un'infezione cronica dell'intestino causata da *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis* (Map). La patologia interessa prevalentemente i ruminanti domestici e selvatici ma può colpire anche altre specie (Beard et al., 2001). In Europa la diffusione appare in crescita negli allevamenti di bovine da latte ma anche in pecore, capre e cervi tenuti in cattività.

La PTBC determina un'ingente diminuzione delle produzioni, perdita di peso e talvolta morte (Chiodini et al., 1996; Begg et al., 2005). E' stato stimato che per ogni animale che presenta i sintomi clinici caratteristici, contemporaneamente in azienda da 4 a 8 capi presentano la forma subclinica e sono quindi portatori asintomatici (Council for Agricultural Science and Technology, 2001). Il costo netto d'infezione subclinica è stato valutato, nel nostro continente, pari a circa 250 euro per capo bovino ed è imputabile soprattutto al calo di produzione latte. Nelle pecore il costo sembra aggirarsi intorno ai 120 euro l'anno negli animali da latte e ai 60 in quelli da carne. Alle perdite dirette vanno aggiunte quelle derivanti da malattie intercorrenti e dall'infertilità favorite dalla PTBC. Un aspetto di particolare interesse è legato alla possibile trasmissione della malattia all'uomo. Map, secondo ipotesi patogenetiche non univoche, potrebbe giocare un ruolo rilevante nell'eziopatogenesi del Morbo di Crohn (MC) (di sicuro è correlato con la malattia ma ancora non è chiaro il ruolo); per questi motivi e per motivi commerciali il Ministero della Salute sta avviando piani di controllo della paratubercolosi nei bovini in tutta l'Italia. Utilizzando i dati sulla prevalenza della paratubercolosi ovina nel Lazio e Toscana (IZS LT 06/10 RC) è possibile conoscere i greggi infetti, partendo da questi presupposti abbiamo dunque investigato sui ceppi di Map circolanti negli allevamenti ovisi e caprini i cui dati in letteratura risultano scarsi. In particolare sugli ovisi infetti o clinicamente ammalati sono state eseguite necrosopie ed è stato studiato anche l'aspetto istologico e anatomopatologico. Dagli organi sono state eseguite delle colture e i ceppi isolati sono stati tipizzati con metodiche di biologia molecolare. Questi dati insieme a quelli della prevalenza negli ovisi potranno senz'altro integrarsi con i piani di controllo dei bovini, contribuendo a migliorare la conoscenza della malattia e della sua diffusione soprattutto in quei territori dove il contatto tra allevamenti bovini ed ovisi è molto stretto. Negli ovisi, studi sperimentali hanno dimostrato la possibilità di trasmissione della malattia agli agnelli attraverso somministrazione orale di inoculi batterici (Kurade et al., 2004; Begg et al., 2005); non tutti gli agnelli infettati sperimentalmente però riproducono la malattia e ciò potrebbe farci ipotizzare la presenza di animali naturalmente resistenti all'infezione (Stabel 2000; Reddacliff et al., 2006). E' stato anche osservato che l'attività di alcuni geni può influire nell'insorgenza delle infezioni da micobatteri (in particolare MAP). Uno di questi geni (SCL11A1) ha degli effetti sulla funzione dei macrofagi, essenziale sia per proteggere dalle infezioni batteriche (sotto forma di difese innate) che per intervenire nell'insorgenza e nello sviluppo delle malattie autoimmuni, regolando la produzione di differenti sostanze (tra cui citochine, TNF- α , interleuchina 1- β).

Il presente studio si è prefissato lo scopo di individuare e tipizzare i ceppi di Map in ovisi e caprini e quando possibile verificarne anche gli aspetti istopatologici. Abbiamo inoltre studiato i polimorfismi del gene SCL11A1 (Sechi L. A., et al., 2006, Paccagnini D., et al., 2009) degli animali infetti e non al fine di caratterizzare eventuali mutazioni che possano determinare una maggiore suscettibilità della pecora all'infezione da MAP.

Motivazioni

L'enterite paratubercolare dei ruminanti da MAP, appare un ottimo modello di studio per la CD umana, condividendo con essa i principali momenti patogenetici e il decorso clinico. Da studi effettuati sugli ovisi, si è potuto constatare che anche nell'ovino l'infezione con MAP può essere abortiva (animale che si autosterilizza), inapparente (animale asintomatico, che sviluppa lesioni molto limitate che "arginano" il

batterio) oppure progressiva e mortale (enterite caratterizzata da infiltrato lepromatoso che diffonde “progressivamente” per tutto lo spessore della parete del piccolo intestino) (Rossi et al., 2005).

Poco o nulla si sa dei ceppi che circolano nelle varie specie di ruminanti e soprattutto dei piccoli ruminanti di questi territori e quale influenza abbia il ceppo sullo sviluppo della malattia. Poco ancora si conosce circa l'assetto antigenico dei differenti ceppi di micobatteri che si isolano nei diversi focolai di malattia. Si presume infatti che, pur nell'omologa composizione, vi possano essere differenze quantitative nei differenti componenti della parete batterica e che ciò possa modificare la risposta dell'ospite, generando forme anatomo-cliniche differenti.

Negli ultimi anni si è assistito ad un crescente interesse della comunità scientifica nei confronti della paratubercolosi, ciò è dovuto sia alla consapevolezza della perdita economica causata dalla malattia stessa, sia al ruolo sospetto del MAP (*Mycobacterium avium paratuberculosis*) nel determinismo del morbo di Crohn nell'uomo (Chiodini, 1989). A fronte di un intensificarsi delle ricerche va sottolineato che queste sono state rivolte soprattutto ad indagini relative allo sviluppo e alla diagnosi della malattia nei bovini, al contrario, i dati fino ad oggi presenti in letteratura riguardo la malattia in ovini e caprini, risultano essere alquanto sporadici e frammentari.

In particolare la diagnosi della paratubercolosi nei piccoli ruminanti ha ricevuto decisamente meno attenzione e per queste categorie è meno nota l'efficacia dei vari metodi diagnostici. Di fatti, seppur la maggior parte delle conoscenze riguardo il MAP possono essere allargate a tutte le specie in maniera abbastanza sicura, vi sono alcune particolarità della paratubercolosi ovina che devono essere tenute in considerazione. Già la diagnosi clinica può presentare dei problemi in quanto i fenomeni cachettici risultano meno frequenti fra gli ovini se non in fasi decisamente terminali della malattia (Perez et al., 1996). Inoltre alcuni ceppi ovini di MAP si sono mostrati molto difficili da coltivare e quello che viene considerato il “golden test” per altri ruminanti non può essere facilmente utilizzato per gli ovini, creando problemi sia per la diagnosi che per la valutazione della specificità e sensibilità degli altri test. D'altronde a fronte di una carenza di dati sui ceppi ovini coltivati in Europa, in altre parti del mondo come Australia e Nuova Zelanda non sembrano esserci particolari problemi nel riuscire a isolarli, relativamente alle loro razze, principalmente da lana e carne. Sembra che l'utilizzo di terreni liquidi come il Middlebrook, con apparecchiature automatiche o accoppiata con periodiche PCR possa agevolare la coltivazione degli stessi.

Prendendo spunto dalle citate esperienze, la presente ricerca è stata progettata con lo scopo di accertare le tipologie di ceppi del *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis* (Map), circolanti nel territorio del Lazio negli ovini. Infatti, i dati al riguardo in Italia, sono scarsi e data la crescente attenzione internazionale su questa malattia cronica e i recenti piani di controllo sulla Paratubercolosi bovina e bufalina e le correlazioni che i ceppi possono avere con la gravità della forma clinica, la gravità delle lesioni anatomopatologiche e la diffusione della stessa, la loro conoscenza potrebbe essere molto utile, sia per il confronto con i dati della letteratura internazionale, sia per futuri piani di controllo o per le esportazioni di prodotti lattiero caseari. A proposito di questi ultimi, Russia, Cina e India hanno già preteso delle garanzie nei confronti della paratubercolosi per i prodotti lattiero caseari esportati dall'Italia. Inoltre non si può certamente effettuare un controllo della paratubercolosi bovina senza agire contemporaneamente sulla popolazione ovina, specie in quelle regioni, come Lazio, Toscana, Sardegna, Sicilia, Umbria e Marche dove le due specie vivono a stretto contatto. Ultimo scopo è quello di verificare alcuni aspetti genetici in soggetti con malattia conclamata o soggetti sani.

