



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
delle Regioni Lazio e Toscana



PAOLA MARCONI
LABORATORIO TSE
IZS DEL LAZIO E DELLA TOSCANA
SEZIONE DI FIRENZE

CLINICA e DIAGNOSTICA della SCRAPIE

La Scrapie degli ovini e caprini: aggiornamenti normativi e protocolli per una prevenzione efficace - Roma 28 novembre 2014





Conosciuta dal XVIII secolo

Denominazione associata a sintomi clinici patognomonici che gli conferiscono una connotazione neurologica (grattamento tremore)

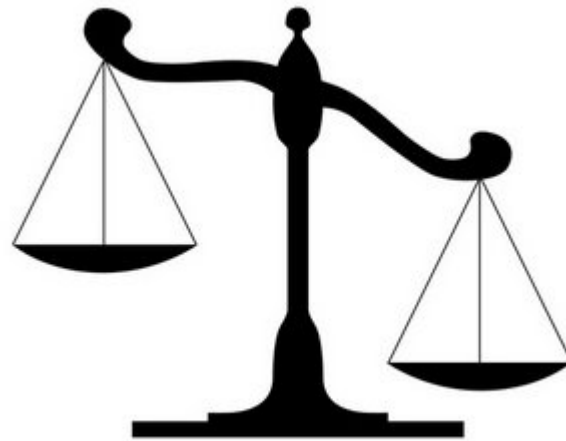
Inserita nell'elenco World Health Organization for Animal Health

Non esistono test diagnostici che consentano l'identificazione precoce ed in vivo dei soggetti infetti

L'orientamento diagnostico è stato fortemente influenzato dal suo inquadramento nel sistema di sorveglianza europeo delle TSE in vigore dal 2002.

SCRAPIE

DIAGNOSI
CLINICA



DIAGNOSI DI
LABORATORIO

SCRAPIE

TSE:
SCRAPIE, BSE, CWD, CJDv

gruppo di malattie da *misfolding* proteico

DIAGNOSI di LABORATORIO:

Rilevazione di PrP^{Sc} su tessuto nervoso

Post mortale

Screening test rapidi validati CRL in IZS

Conferma CEA (esami istologico, immunoistochimico e western-blot)

Diagnosi differenziale

Genotipo

SORVEGLIANZA



Monitoraggio pianificato annualmente su soggetti macellati e morti in azienda (adempimento comunitario)



- Individuazione di casi clinici

PREVENZIONE

- Selezione genetica negli ovini per **scrapie classica**

(D.M. 17 Dicembre 2004 “Piano nazionale di selezione genetica per la resistenza alle encefalopatie spongiformi negli ovini”)

- Individuazione di alleli di resistenza nella **specie caprina (allele K222)**
- Progressiva definizione di azioni selettive per **scrapie atipica**

Evoluzione della Sorveglianza

La progressiva eradicazione della BSE non ha sottratto interesse alle TSE dei piccoli ruminanti ancora molto rappresentate nelle nostre regioni

I piani saranno sempre più orientati a:

sorveglianza aziendale di tipo clinico

accertamento della causa mortis nei soggetti venuti a morte in allevamento

I controlli post mortem hanno probabilmente ridotto la consapevolezza clinica ed anche desensibilizzato nei confronti di una diagnosi differenziale di tipo neurologico

CAPACITA' DIAGNOSTICA

L'efficienza della sorveglianza si basa sulla capacità di riconoscere i segni clinici associati alla malattia ma.....

- La presenza di forme atipiche rende complessa la definizione diagnostica in quanto vengono meno i sintomi patognomoni della malattia ad es. il prurito
- E' una malattia causata da *misfolding proteico* e quindi molto influenzata dalle caratteristiche individuali dell'ospite
- Il genotipo dell'ospite può influenzare la comparsa, la durata, l'evoluzione la severità dei sintomi clinici
- La malattia si manifesta diversamente nella specie ovina e nella specie caprina
- Il lungo periodo di incubazione (2-6 anni) può creare quadri clinici diversi nell'ambito dello stesso gruppo

EFFICIENZA DIAGNOSTICA

accurata conoscenza

- della malattia nelle sue diverse forme cliniche
- delle manifestazioni cliniche specie-specifiche
- delle caratteristiche diagnostiche differenziali tra le TSE (non può prescindere dalla diagnosi di laboratorio)

approccio diagnostico uniforme

- per le diverse forme cliniche
- applicabile alla specie ovina e caprina

SCRAPIE

- **due forme cliniche** classica e atipica distinte (anche per caratteristiche epidemiologiche e patogenetiche)
- non può prescindere dalla **relazione con BSE** ai fini della tutela della salute umana
- In un gruppo possono essere presenti soggetti in **fasi cliniche diverse** (esordio clinico, progressione, punto finale)
- Le **conoscenze scientifiche** derivano da studi clinici in campo e studi sperimentali (le diverse combinazioni: BSE in ovino e caprino, BSE atipica in ovino, scrapie classica in caprino, scrapie atipica in ovini e caprini)
- **Diagnosi differenziale** (malattie neurologiche infiammatorie, metaboliche, compressioni cerebrali, neoplasie)

- ha elaborato un protocollo per facilitare la diagnosi clinica di scrapie applicabile sia in campo che per lo studio sperimentale sulla evoluzione clinica della malattia

Timm Konold **Laura Phelan**



PROTOCOLLO CLINICO per la diagnosi di **SCRAPIE CLASSICA e ATIPICA**

- in tempi rapidi (5 minuti)
- su gruppi numerosi
- fornendo valutazioni specifiche

HORT CLINICAL ASSESSMENT OF GOATS

STUDY:

DATE:

ANIMAL NO:

FARM OF ORIGIN:

BREED:

SEX:

FARM:

BLOCK:

PEN:

CLINICIAN:

RECORDED BY:

REASON FOR EXAMINATION:

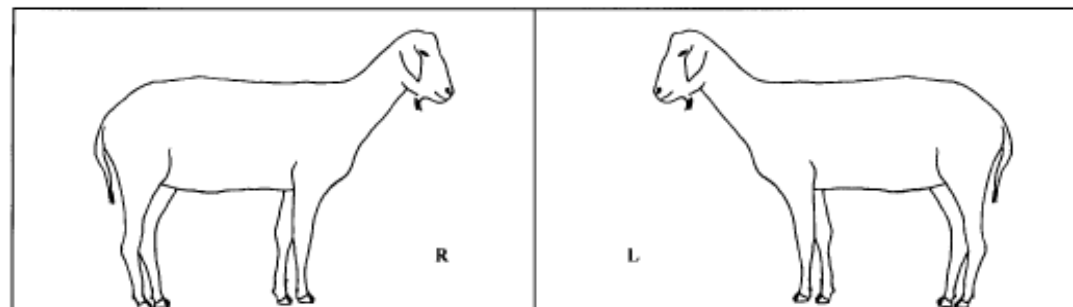
(✓ if normal , × if not able to observe, describe in detail if abnormal)

1. Posture / Head Carriage						
2. Abnormal Movements / Tremors / Fasciculations	None ✓ / Yes ✗ (describe):					
3. Mental Status						
4. Behaviour	Resting (left alone):	Approached:		Handled:		
5. Hand clap						
6. Menace response	Left:			Right:		
7. Scratch / Nibble Test	Negative ✓ / Inconclusive ✗ / Inconsistent ✗ / Positive ✗ / Unable to assess					
Other / details:	Area / Reaction	Nibble/Lick	Head mov	Body mov	Other react	Sensitive
	Cranial thoracic area					
	Middle thoracic area					
	Thoracolumbar					
	Lumbar area					
	Sacral area					
	Base of the tail					
8. Body condition score						
OVERALL GAIT:						
9. Stiff / lame	No <input type="checkbox"/> / Yes <input type="checkbox"/> – describe:					
10. Neurological	No <input type="checkbox"/> / May be <input type="checkbox"/> / Yes <input type="checkbox"/> – describe:					
11. Other on gait	No <input type="checkbox"/> / Yes <input type="checkbox"/> – describe:					

12. Other On Behaviour / Activity (tooth grinding, rubbing):

13. Skin lesions: No ☐ / Yes ☐ - list areas and types/ draw below

14. Hair loss: No ☐ / Yes ☐ - list areas and types/ draw below



15. Additional findings:

STATUS <input type="checkbox"/> no evidence of TSE <input checked="" type="checkbox"/> suspect TSE <input checked="" type="checkbox"/> inconclusive with regards to TSE	
Still photo: No <input type="checkbox"/> / Yes <input type="checkbox"/> (describe):	

PROTOCOLLO CLINICO
per la diagnosi di
SCRAPIE CLASSICA e ATIPICA nella capra

CLINICAL ASSESMENT OF GOAT

PROTOCOLLO CLINICO OVINI

E' stato definito in base allo studio clinico di soggetti inoculati sperimentalmente con

- scrapie **classica**
- scrapie **atipica**
- Inoculo con omogenato TSE free (controllo)

evidenziando in sintesi le differenze tra le due forme della malattia

Principali alterazioni cliniche

- motorie e della postura
- sensoriali
- comportamentali
- condizioni generali

I danni funzionali sono correlati a vacuolizzazione ed accumulo amiloide a livello di strutture deputate a numerose funzioni

Numerosi studi per BSE

Nuclei nervi cranici

centri di controllo funzioni cardio- respiratorie, sensitive, comportamentali

Vie ascendenti (da midollo spinale a talamo e corteccia)

Propriocezione, dolore, tatto

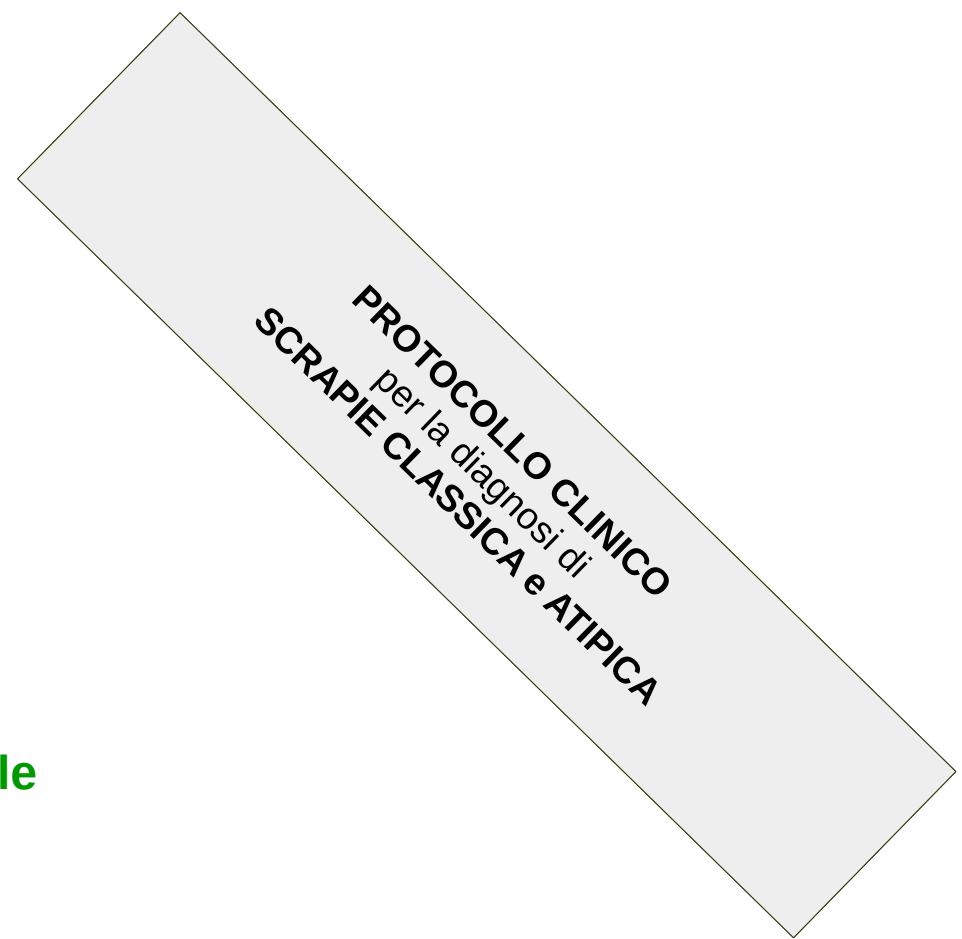
Vie discendenti (da encefalo a midollo)

Iperestesia, ipereazione stimoli luminosi, tattili, acustici

Sistema nervoso autonomo

Disturbi app. cardio vascolare

1. **Valutazione della postura**
2. **Valutazione del comportamento**
3. **Test della risposta alla minaccia**
4. **Test della risposta scratch**
5. **Controllo perdita di lana e lesioni della pelle**
6. **Condizione fisica**
7. **Bendaggio dell'animale**
8. **Valutazione del movimento dell'animale**
9. **Interpretazione**



1. Valutazione della Postura

Valutare la postura in animale indisturbato

- Arti allargati alla base
- Postura ricurva
- Testa bassa

2. Valutazione del comportamento

Studiare l'andatura e i movimenti muscolari dell'animale quando si muove liberamente, si manipola e all'avvicinamento

- Stazione in piedi isolati da altri soggetti
- Lentezza nel seguire il gruppo
- Fuga e crollo a terra all'avvicinamento
- Crollo a terra durante il maneggiamento
- Movimento in circolo compulsivo in senso orario o antiorario
- Ansietà paura



3. Risposta alla minaccia

Eseguire un gesto di minaccia verso l'occhio dell'animale con la mano o dita unite inducendo la chiusura palpebrale

- Risposta assente (classica +, atipica +++)
- Evocare anche il riflesso palpebrale per escludere paralisi facciale



3. Risposta allo scratch

Eseguire il grattamento della schiena a livello toracico lombare sacrale

Suscita leccamento del labbro con movimenti laterali della testa

Movimenti della testa o del corpo ritmici

Movimenti delle labbra

Leccamenti di zone stimulate (classica +++++, atipica-)

La risposta è ripetibile



5. Perdita della lana e lesioni della pelle

Ispezionare la pelle sulla testa, fianchi, posteriore

- Il prurito provoca perdita di lana su testa, schiena, groppa, lateralmente su torace e addome con pelle sottostante normale
- Abrasioni se l'animale può sfregarsi su oggetti fissi
- Ferite da morso sugli arti

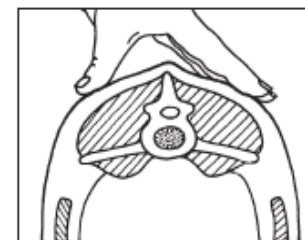
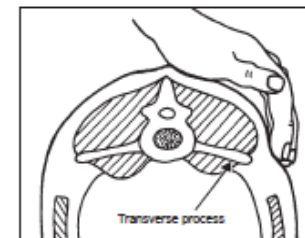
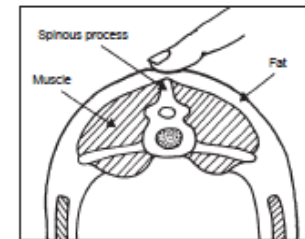


6. Condizione fisica

Palpazione dei processi vertebrali spinosi dorsali e trasversi lombari per valutare lo spessore del tessuto muscolare ed adiposo secondo scala di Russel (1-5)

Progressiva perdita di peso con processi trasversi percepibili individualmente e processi spinosi ad estremità sporgente

Perdite della produzione



7. Bendaggio dell'animale

Coprire occhi dell'animale con un cappuccio

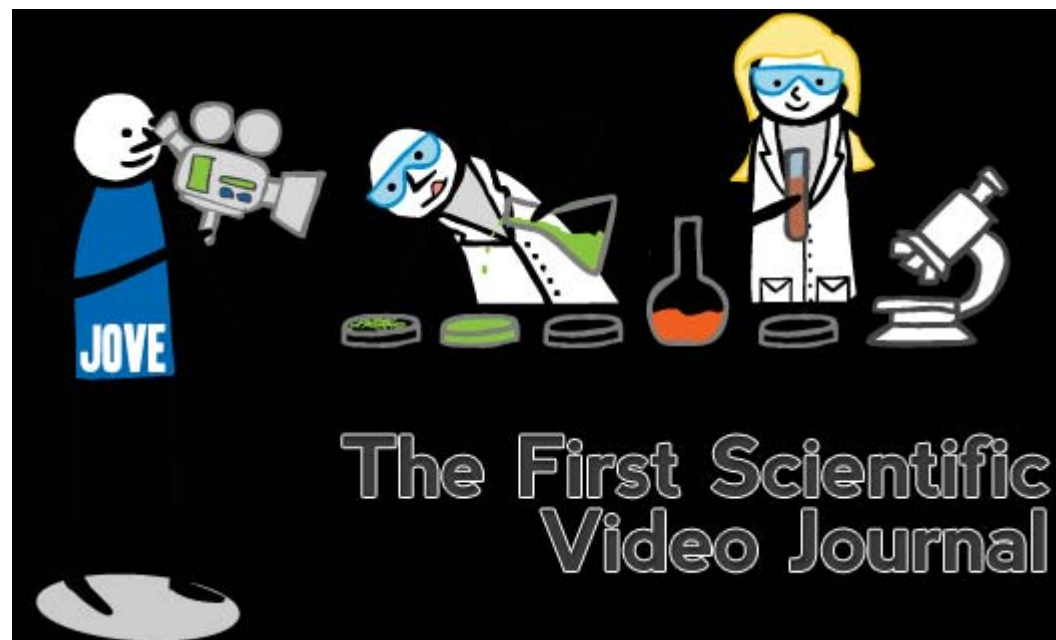
- Causa aggravamento di sintomi vestibolari e cerebellari in quanto priva l'animale della compensazione visiva
- Perdita di equilibrio incoordinazione movimenti in circolo (atipica+++)



8.Valutazione del movimento

Valutare l'andatura e i movimenti muscolari quando si muove liberamente

- Incoordinazione motoria sui posteriori
- Movimento saltellante
- Incertezza, cadute, brevi sedute
- Tremore della testa lieve su animale fermo e indisturbato, più evidente durante o dopo l'esame clinico



9. Interpretazione

- Si consideri individualmente la risposta a ciascuna test escludendo per ciascuno altre cause
- La presenza combinata di due o più test positivi è fortemente indicativa di scrapie

CONTROLLO

soggetto inoculato con cervello bovino New Zealand
esaminato dopo 49 mesi

- Postura normale
- Comportamento normale
- Normale risposta di minaccia
- Nessuna reazione al test del grattamento
- Vello intatto
- Buona condizione fisica
- Al bendaggio non mostra disturbi del movimento

SCRAPIE ATIPICA

soggetto inoculato con omogenato di cervello scrapie atipica di genotipo PrP AHQ/AHQ esaminato dopo 36 mesi

- **Assenza di risposta alla minaccia**
- Postura normale
- **Comportamento alterato (paura)**
- **Movimenti in circolo spontanei o in risposta al bendaggio con movimenti in circolo in senso orario o antiorario**
- **Assenza di risposta al grattamento**
- **Vello intatto**
- **Perdita dell'equilibrio**
- Andatura atassica
- Tremore della testa



SCRAPIE CLASSICA

inoculato IC con omogenato di cervello BSE atipica esaminato dopo 50 mesi

- **Forma pruriginosa**
- **Perdita di lana e traumi cutanei**
- **Debole risposta alla minaccia**
- **Movimenti della testa e delle labbra evocati dal grattamento**
- **Per il mantenimento dell'equilibrio ricerca di appoggio o posizione seduta**
- Postura ricurva
- Postura su base larga
- **Tendenza a cadere se contenuta**
- **Al bendaggio riluttanza al movimento**
- **Atassia o ipermetria**
-
- **81% disturbi del movimento**

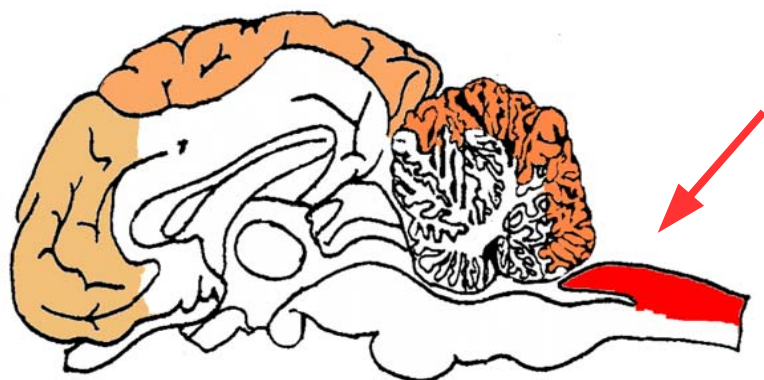


SINTOMI CLINICI	Atipycal Scrapie	Classical Scrapie
Alterazioni comportamentali	X	X
Assenza risposta minaccia	X	
Positività allo <i>scratch</i> test		X
Danni a vello e cute		X
Movimenti in circolo	X	
Incoordinazione	X	
Tremori	X	X

STUDIO IHC DISTRIBUZIONE E PATTERN PrP^{Sc}



SCRAPIE CLASSICA



SCRAPIE ATIPICA

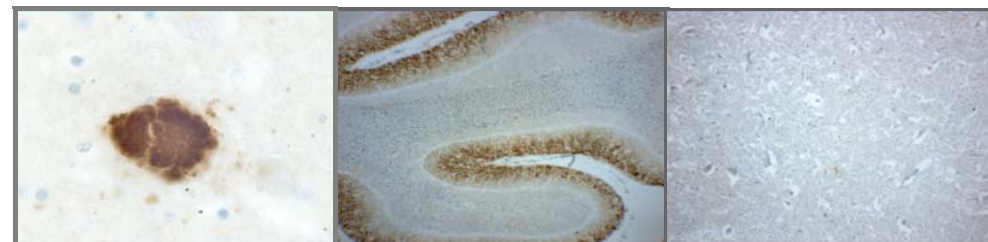
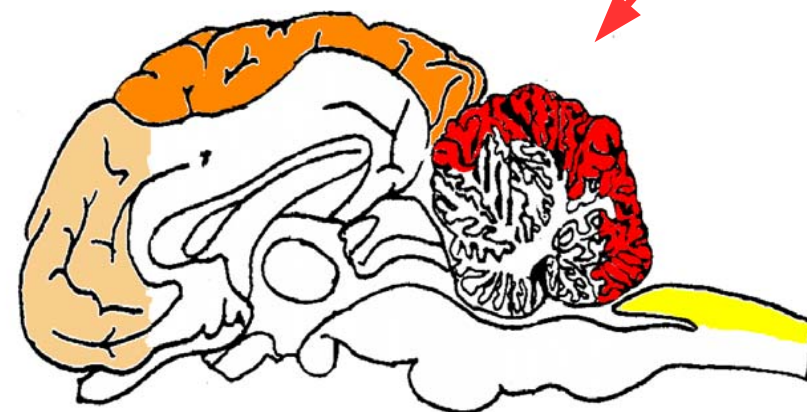
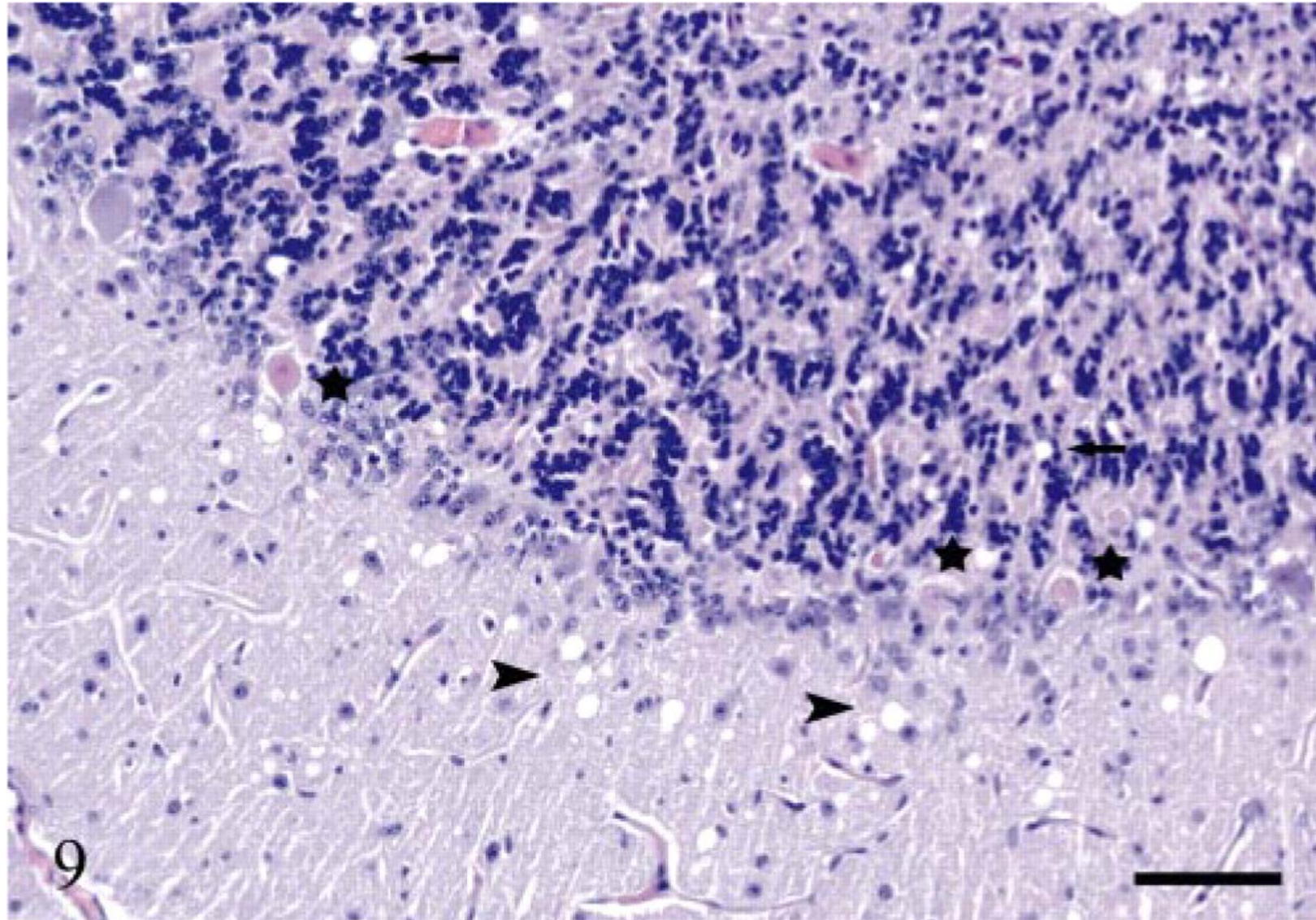


Fig. 9. Cerebellum; sheep E20, 743 dpi, PrP genotype VRQ/VRQ.



Ersdal C et al. Vet Pathol 2005;42:258-274



Table I. Categorisation of TSE in small ruminants. The table is adapted from the EFSA opinion (2005)².

TSE type	“Stringent” Western blot	“Mild- proteinase K” Western blot	Immunohistochemistry and histopathology	Comments
Classical scrapie	Three band pattern above 15 kDa.	Three band pattern above 15 kDa.	Grey matter vacuolation immuno-labelling in the medulla involving the DMNV.	Susceptible genotypes 2– 5 years old.
BSE in small ruminants	Three band pattern. Dominance of the di-glycosylated band. No or weak staining with mAb raised against the N-terminus. Unglycosylated band lower than in classical scrapie.		Grey matter vacuolation immuno-labelling in the medulla involving the DMNV.	
Atypical/Nor98	Negative or showing a Western blot profile distinct from other TSE.	Multiple band pattern with a lower band at below 15 kDa.	No involvement of the DMNV ¹ . Immunostaining often present in the nucleus of the spinal tract of the trigeminal nerve. Immunos- taining generally more intense in the cerebellar and cerebral cortices.	Commonly older sheep (4 years and more). Geno- types associated with resistance to classical scrapie. Preferences for the AHQ, AF ₁₄₁ RQ, and ARR alleles. Most often single cases per flock.

DMNV: dorsal motor nucleus of the vagus.

Anche nelle capre

La variabilità nell'evidenza clinica deriva da una combinazione tra

- Ceppi di scrapie
- Razze e genotipi

(l'allele di resistenza è presente a bassa frequenza
e solo in alcune razze es. tirreniche)



Altri sintomi segnalati nella capra:

Depressione del sensorio (letargia), agitazione e calci alla mungitura (iperestesia), salivazione, polmonite ab ingestis (vago e glossofaringeo), lesioni agli arti





SEGNALAZIONE CLINICA

nell'attuale piano di sorveglianza

CATEGORIA	LUOGO	FASE	MODULISTICA	DICHIARANTE
Sospetto clinico	azienda	Esame clinico in azienda	Sospetto clinico MOTIVO 3	Veterinario aziendale/ASL
Indagine epidemiologica	azienda	Intervista allevatore Anamnesi recente/remota	Allegato Ind. Ep. CEA	Veterinario ASL
Morte in azienda	azienda	Anamnesi allevatore	Verbale MOTIVO 2	Veterinario ASL
Visita ante-mortem	macello	Visita premacellazione	Verbale Macello	Veterinario ASL

Rilievi clinici nella documentazione IZSLT 2002-2014

Postura: base di appoggio aumentata, postura alterata

Comportamento: alterazione del carattere (timore, nervosismo) Aggressività marcata, anoressia e/o bulimia Agitazione

Perdita lana e lesioni cutanee prurito Aggressività, marcata perdita del vello, lesioni da grattamento, morsicature arti anteriori

Condizioni generali Dimagrimento progressivo o improvviso, deperimento infertilità

Movimento: andatura alterata con cadute frequenti fino al decubito obbligato, atassia, incoordinazione motoria, andatura incerta

Sintomi nervosi: scialorrea, imbrattamento verdastro del musello, tremori muscolari, crisi simil-epilettiche seguite da caduta a terra, prurito

Nei casi da ceppo atipico non sono state rilevate marcate differenze, molto rappresentate le alterazioni motorie, ma è spesso rappresentato il prurito e lo scadimento delle condizioni generali

Non sono mai state fatte valutazioni cliniche in base alla evocazione di riflessi

Atipico Tremori muscolari, atassia locomotoria, prurito, scialorrea, dimagrimento

INCIDENZA REGIONALE

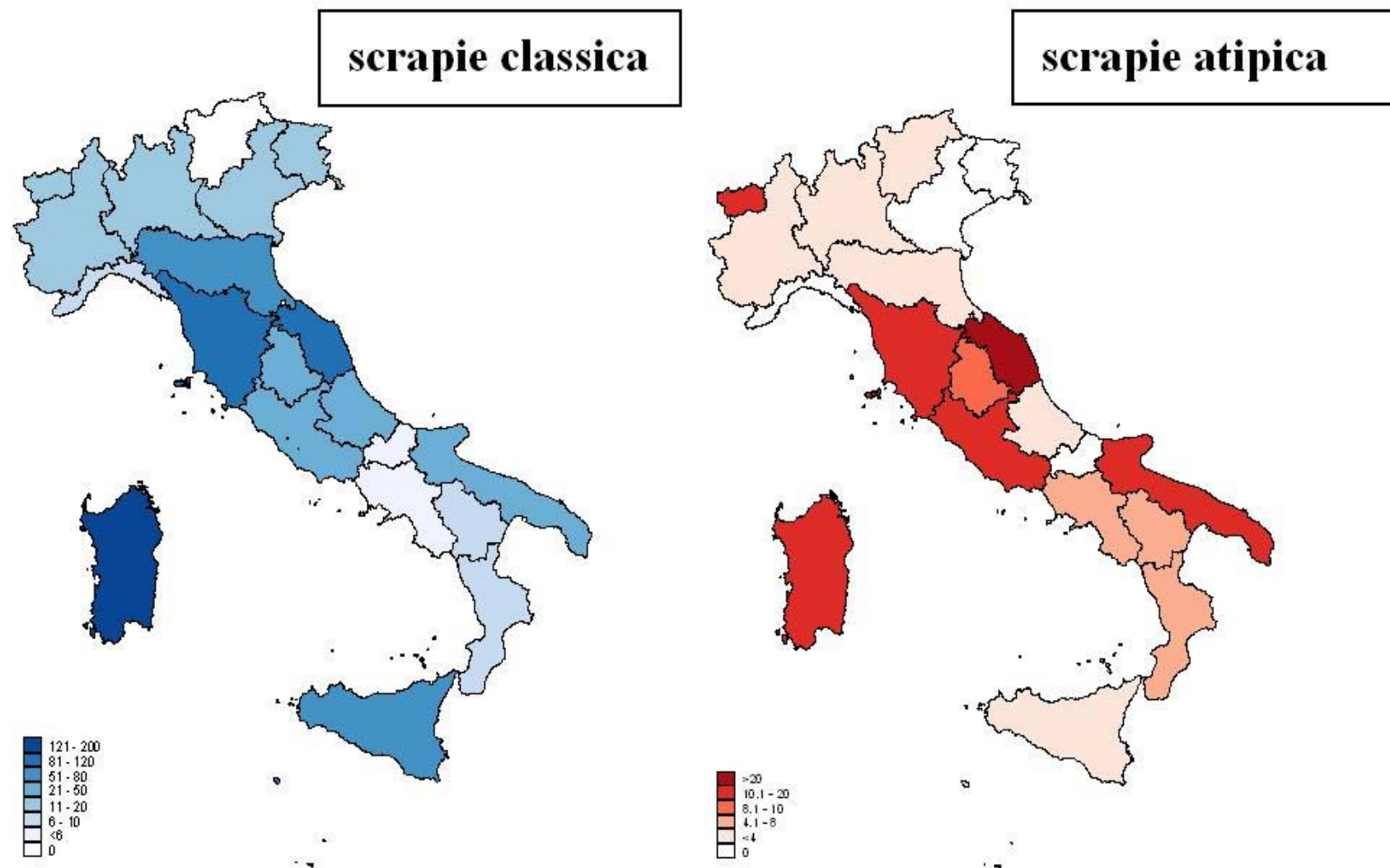
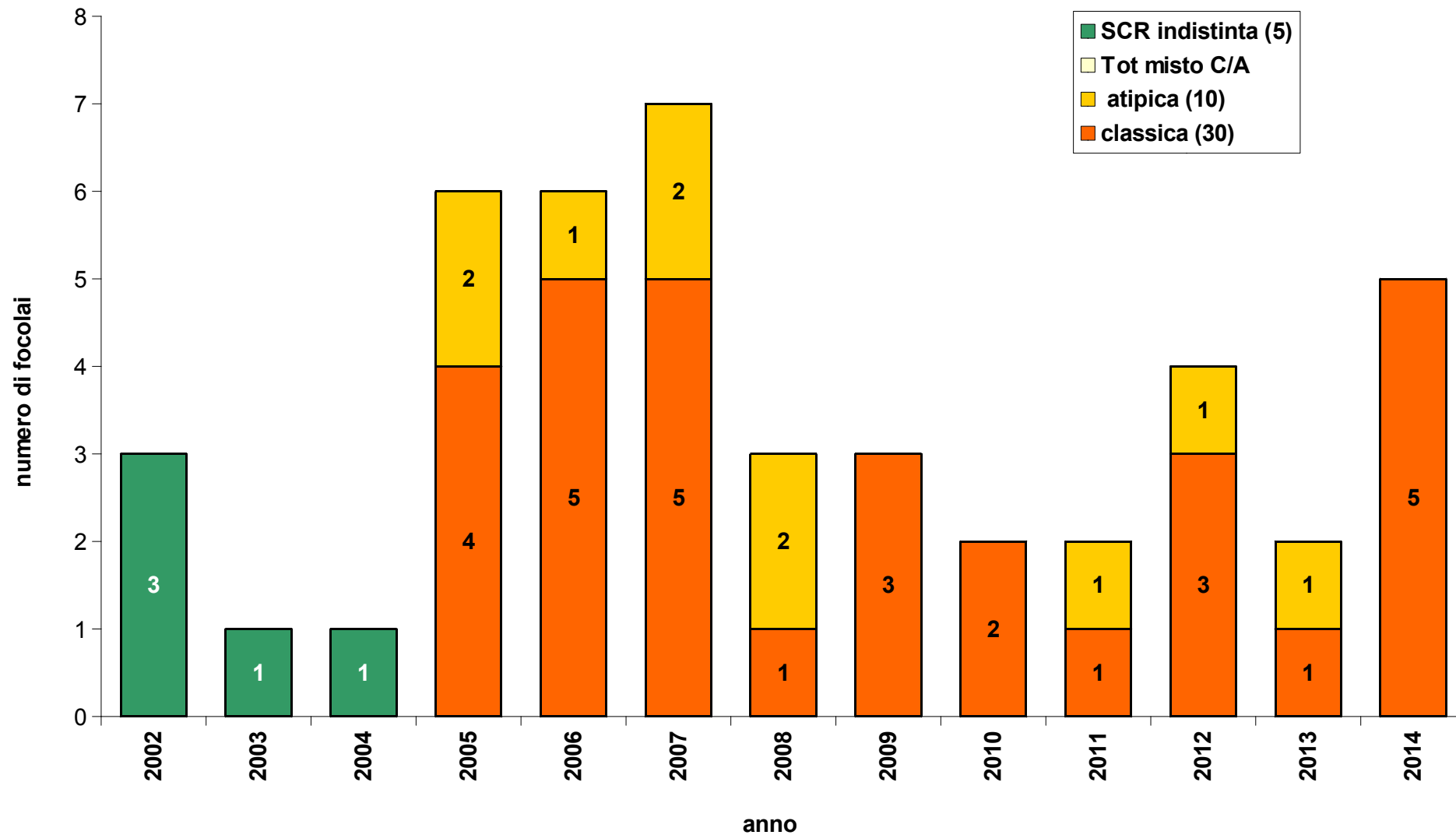
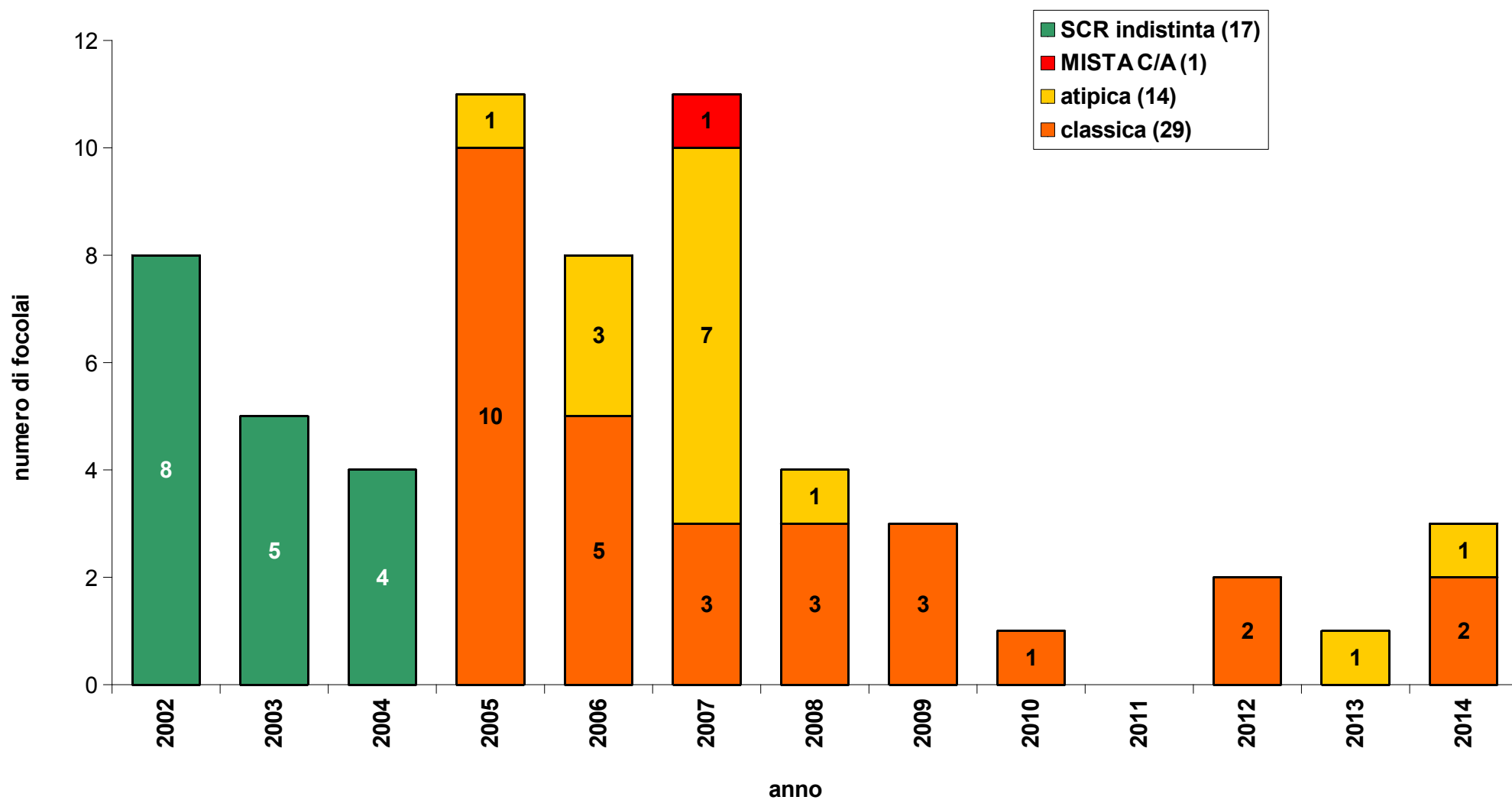


Fig. 2 Scrapie: incidenza regionale
(numero di focolai/10.000 allevamenti) dal 1995 al 2013 CEA Torino

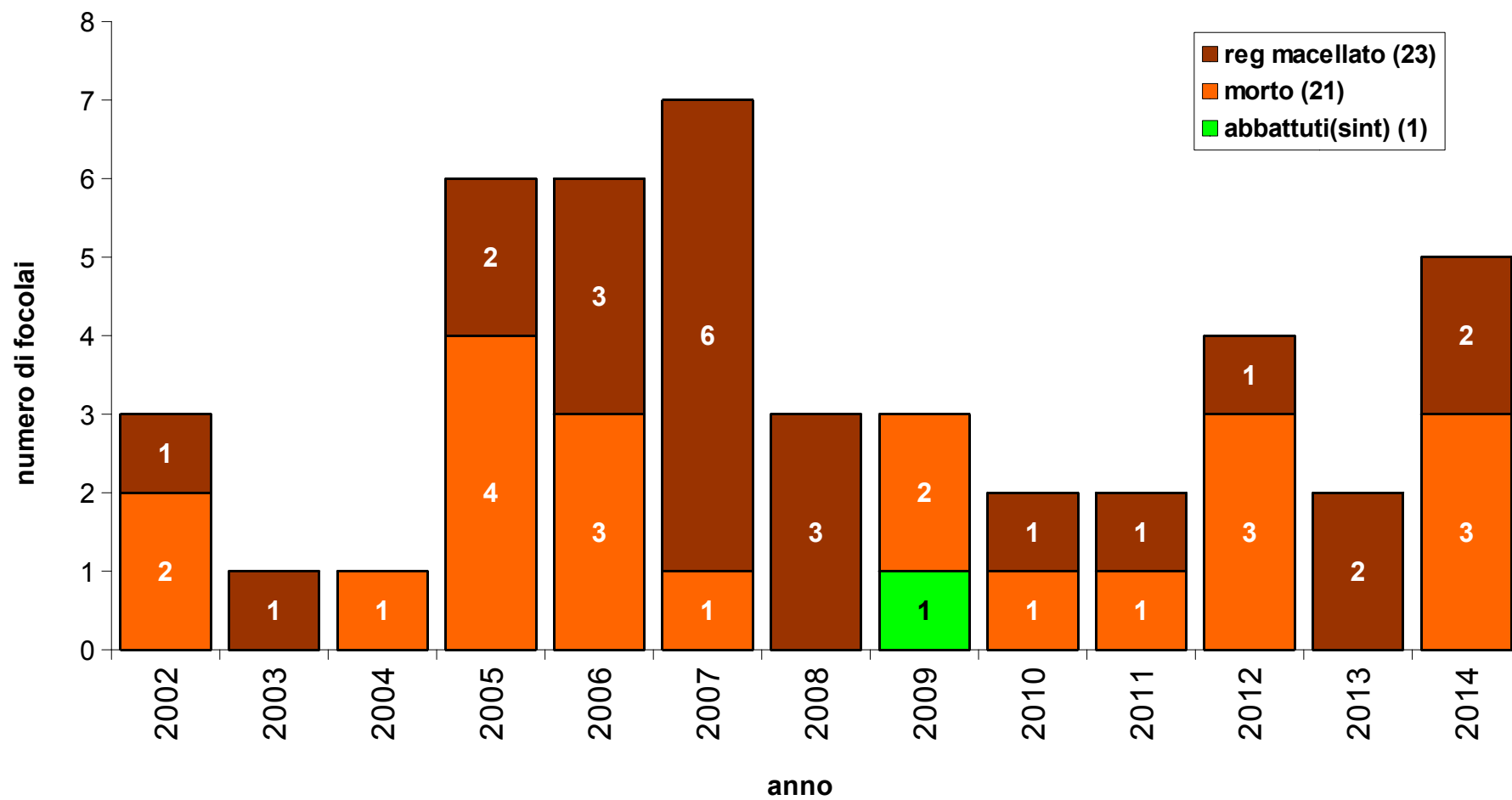
Lazio 2002-2014: focolai di scrapie in base al ceppo del caso index (N=45)



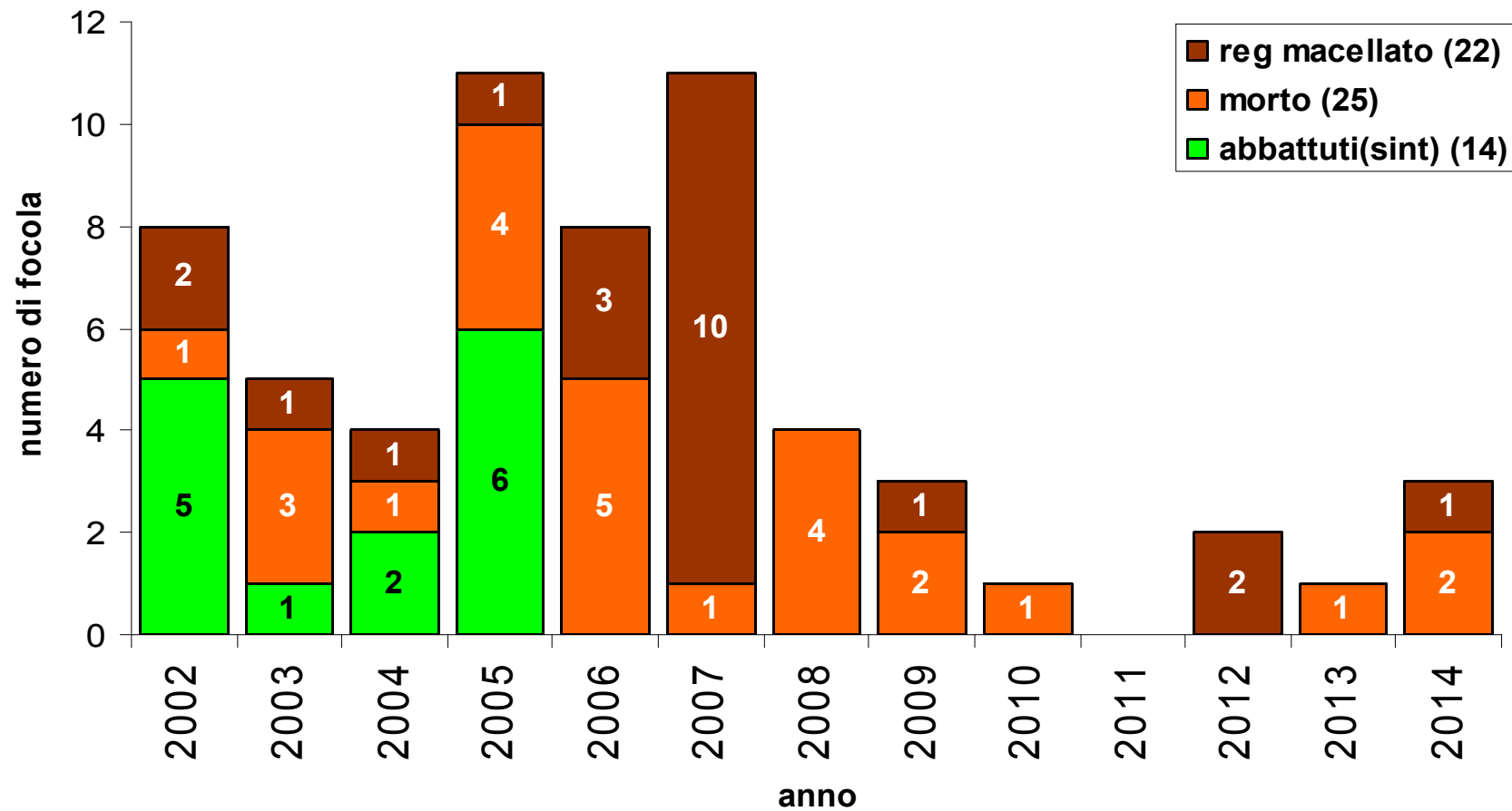
Toscana 2002-2014: focolai di scrapie in base al ceppo del caso index (N=61)



Lazio - 2002-2014: numero di focolai individuati in base al tipo si sorveglianza (N=45)



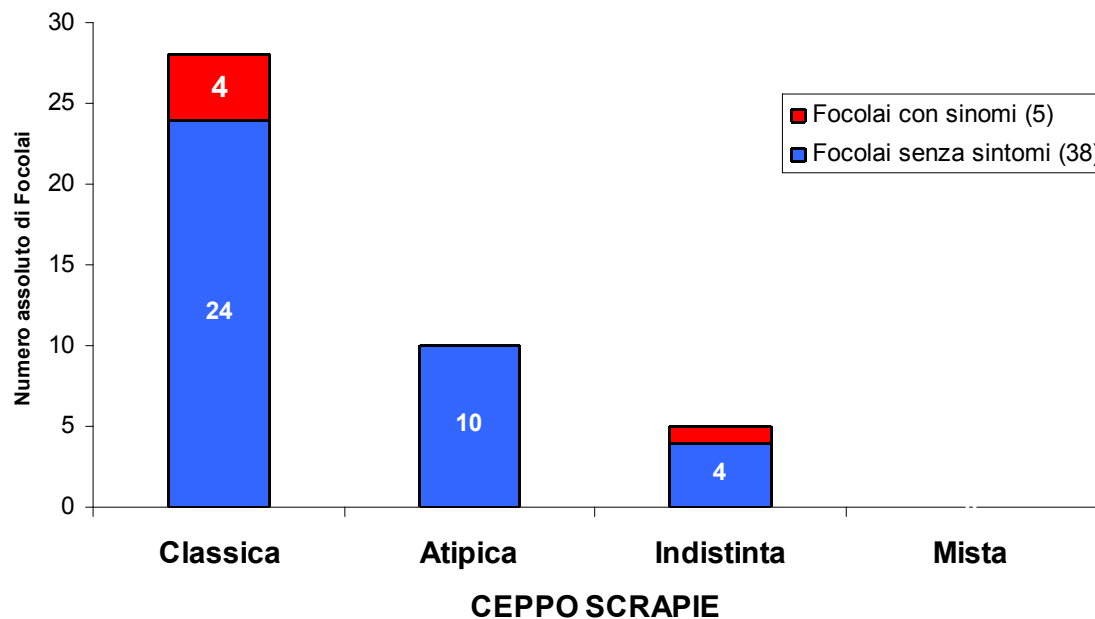
**Toscana - 2002-2014: numero di focolai individuati in base
al tipo si sorveglianza (N=61)**



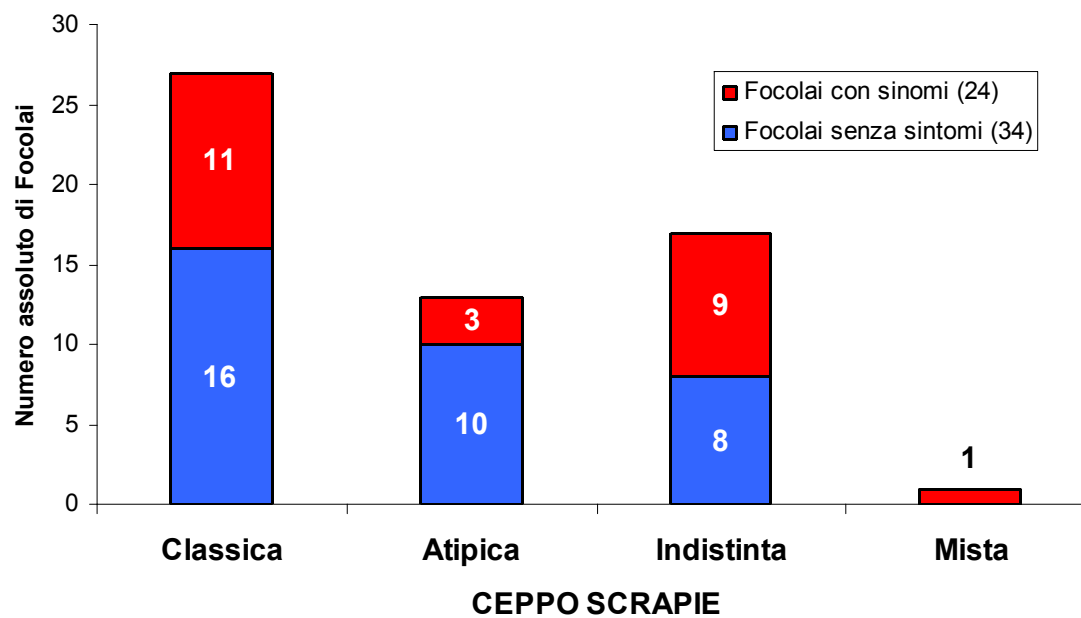
Indagini epidemiologiche in focolaio
(2002-2014)

Segnalazione di sintomi neurologici
pregressi compatibili con scrapie prova

**Lazio - focolai 2002-2014: segnalazione da questionario su
presenza di pregressa sintomatologia Scrapie-compatible**



**Toscana - focolai 2002-2014: segnalazione da questionario su
presenza di pregressa sintomatologia Scrapie-compatible**



DIAGNOSI DIFFERENZIALE

l'esame clinico rimane un passo fondamentale
per l'individuazione degli animali sospetti da sottoporre ad accertamenti e la
diagnosi differenziale deve essere accuratamente valutata

escludere varie altre condizioni nei piccoli ruminanti che si presentano con
segni simili, come metaboliche o malattie neurologiche infiammatorie,
ascessi cerebrali, o tumori

Diagnosi differenziale

ALTERAZIONI SENSORIALI

Prurito sfregamento contro oggetti fissi
(testa, fianchi, sacro, base della coda)

mordicchiamento delle estremità degli arti

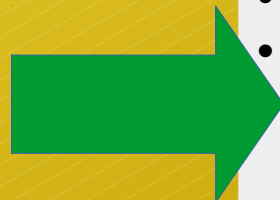
grattamento della regione laterale del torace con gli
arti posteriori
aree alopeciche lesioni simmetriche dovute al
grattamento

frequenti leccamenti del musello

movimenti eccessivi delle orecchie
tosse

belato tremolante o assente

maggior sensibilità a stimoli luminosi acustici tattili
percezione visiva alterata fino alla cecità



Prurito/perdita di pelo:

- Rogna
- Pediculosi
- Dermatofitosi
- Pseudorabbia

Nibble:

- Pseudorabbia
- Dermatofitosi
- Fotosensibilizzazione
- Allergie

Diagnosi differenziale

ALTERAZIONI DEL MOVIMENTO

Postura:

- arti anteriori addotti fino ad incrociarsi
arti posteriori divaricati
- postura della testa alterata
- coda por tata in alto
- decubito

Andatura:

- incerta, barcollante, atassica
- ipermetria/dismetria
- andatura al trotto
- saltellamento con arti posteriori (hopping)
- cadute e/o difficoltà ad alzarsi
- fascicolazioni
- tremori

Postura, andatura:

- Traumi
- Ipocalcemia
- Lesioni cerebellari
- Abiotrofia

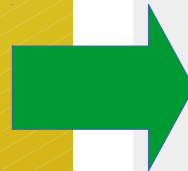
Tremori muscolari

- Carenza di tiamina (Vit. B1)
- Carenza di Vit. E – Selenio
- Infezioni (tossiemia)
- Listeriosi
- Ipocalcemia
- Avvelenamenti

Diagnosi differenziale

ALTERAZIONI DEL COMPORTAMENTO- STATO MENTALE

- aggressività
- attacchi convulsivi
- digrignamento dei denti (bruxismo)
- stupore
- depressione del sensorio
- timore apprensione



Meningiti batteriche

- Listeriosi
 - Ascessi cerebrali
 - Cenurosi
 - Tossiemia gravidica
 - Aggressività
- rabbia
ipomagnesiemia
Bruxismo
Acidosi ruminale
Enteriti
Parassitosi
Chetosi

Diagnosi differenziale

ALTERAZIONI SNA

ridotta cinesi ruminale

- difetti di ruminazione
- scialorrea
- modificazione del ritmo cardiaco
- polidipsia



- paratubercolosi
- parassitosi
- dieta non adeguata
- patologie polmonari croniche
- fascioliasi
- tossicità da rame
- neoplasie
- linfadenite caseosa
- patologie a carico dei denti

Conclusioni

- Le indagini cliniche in campo:

Sono complesse e spesso non applicabili o non sovrapponibili a quelle definite dai protocolli sperimentali

- sono mirate al riconoscimento “delle TSE” dei piccoli ruminanti
- per la conferma diagnostica sono necessarie le procedure di laboratorio
- La sorveglianza in azienda rimane uno strumento efficace per la tutela della sanità animale e della salute umana
- La conoscenza delle evidenze cliniche può essere utilizzata anche dall'allevatore

Riferimenti Bibliografici

1. Benestad S. L., Arsac J. N., Goldmann W., Noremark M. Review article Atypical/Nor98 scrapie: properties of the agent, genetics, and epidemiology Vet. Res. (2008) 39:19 www.vetres.org DOI: 10.1051/vetres:2007056 c INRA, EDP Sciences, 2008
2. Konold, T. Phelan, L. Specialist Scientific Support Department, Animal Health and Veterinary Laboratories Agency Weybridge. Clinical examination protocol to detect atypical and classical scrapie in sheep. Journal of Visualized Experiments. (83):e51101, 2014
3. D'Angelo A, Maurella C, Bona C, Borrelli A, Caramelli M, Elena Careddu M, Jaggy A, Ru G. Assessment of clinical criteria to diagnose scrapie in Italy Vet J. 2007 Jul;174(1):106-12. Epub 2006 Aug 1



Grazie per l'attenzione