

Valutazione di un protocollo di controllo della clostridiosi nella bovina da latte

Arpinelli A*., Ghidini F.**., Piancastelli C.** e Cavirani S.**

* *Medico Veterinario, Libero Professionista*

** *Dipartimento di Salute Animale, Università di Parma*

RIASSUNTO.

In un allevamento da latte è stato seguito l'andamento della prevalenza di clostridiosi (sindrome morte improvvisa e mastite gangrenosa) durante il periodo 2001-2004. L'applicazione della vaccinazione introdotta nel 2003 ha comportato una riduzione della malattia da circa il 9,5% del periodo 2001-2002 al 4,5%. Nel corso del 2004, l'associazione della vaccinazione con l'installazione sulla rete idrica di un presidio in grado di aumentare il tenore di ossigeno libero nell'acqua di abbeverata ha contribuito ad un ulteriore, significativa riduzione della prevalenza di malattia clinica che si è attestata intorno al 2,5%.

INTRODUZIONE

Le caratteristiche anaerobie, la capacità di produrre forme di resistenza ambientale, rappresentate dalle spore, fanno ritenere che i clostridi rappresentino una delle primordiali forme di vita terrestri. La spiccata capacità di adattamento di questi batteri ne ha condizionato l'ubiquitarità e la capacità a vivere all'interno dell'organismo animale, quale componenti della normale flora batterica. L'attitudine da parte di alcune specie clostridiali a produrre potenti tossine ne determina il coefficiente patogenetico che spesso risulta esiziale per l'ospite. I ruminanti per caratteristiche intrinseche ed esigenze di natura alimentare risultano particolarmente esposti al contatto e all'ingestione di clostridi, soprattutto di spore, fatto che li rende soggetti a manifestazioni patologiche correlate all'attiva replicazione batterica e conseguente produzione di tossine. I quadri patologici sono in ogni caso da ascrivere alla peculiare azione delle tossine sui distretti organici che ne rappresentano il target patogenetico. La specie bovina non esula da detto assunto. Nell'ambito di detta specie le enterotossiemie rappresentano a pieno titolo le principali manifestazioni patologiche ascrivibili all'intervento di clostridi patogeni (5). In detto contesto, è descritto l'intervento prevalente di *Clostridium perfringens*, *Cl. sordellii* e *Cl. septicum* (7). Il primo rappresenta senza dubbio la causa maggiore di enterotossiemie nel bovino (1). Attualmente nell'ambito di *Cl. perfringens* si riconoscono 5 biotipi (A, B, C, D, E) e detta sottotipizzazione fonda sulla produzione di tossine propriamente indicate come tipizzanti (alfa, beta, epsilon e iota) (8). A queste si aggiungono ulteriori tossine (beta 2 e enterotossina-CPE) che assumono rilevante significato patogenetico (3).

Le forme cliniche che rientrano nella generica accezione di enterotossiemie risultano variegata, tuttavia quella che riveste maggior importanza per drammaticità e riflessi di ordine zoeconomico è rappresentata dalla "sindrome morte improvvisa" (2). Il fenomeno in alcune realtà assume carattere di vera emergenza, sia in termini di frequenza con cui la patologia si manifesta, sia per il valore economico degli animali colpiti che, nel caso dell'allevamento da latte, solitamente si collocano tra quelli maggiormente produttivi, in virtù della notevole ingestione di alimento (1). La patologia è legata alla massiva ingestione di spore, alle caratteristiche di patogenicità del clostridio e risulta pesantemente condizionata da situazioni di ordine alimentare-digestivo atte a creare le condizioni per una attiva replicazione clostridiale. E di comune assunto come l'alimentazione a unifeed abbia comportato un esacerbarsi della patologia. In tal senso alcuni elementi sembrano condizionare pesantemente il fenomeno: l'ingestione massiva di terra, che nella miscelata risulta impastata con l'alimento, implica un elevato apporto di spore; esiste la possibilità che si verifichino fermentazioni nell'ambito della miscelata, tali da alterare la normo-flora ruminale ed enterica, creando le condizioni per lo sviluppo clostridiale. Sul versante dei correttivi, la vaccinazione rappresenta il provvedimento di più immediata applicazione (6). Gli esiti in campo della vaccinazione risultano incostanti. Ciò può derivare dalla mancata rispondenza del profilo antigenico vaccinale rispetto alla

gamma di tossine prodotte dai clostridi infettanti, ma più plausibilmente dal fatto che la produzione di tossine eccede rispetto alla quota di anticorpi evocati dal vaccino. Alla luce di quanto precede, appare evidente come il controllo della clostridiosi passi attraverso un duplice approccio: la vaccinazione associata a misure di carattere gestionale- alimentare atte a ridurre l'ingestione di spore e/o contrastare la germinazione delle stesse e la replicazione clostridiale con relativa produzione di tossine. La presente nota è volta ad illustrare i risultati di un protocollo integrato mirato al controllo della clostridiosi in un allevamento da latte ad alta produzione connotato da una significativa prevalenza di malattia.

MATERIALI E METODI

Lo studio è stato eseguito in un allevamento da latte di razza Frisona costituito da 400 capi in produzione. La razione base (kg/capo), allestita in regime di unifeed, è costituita da fieno di medica (1,50), fieno misto erbaio (0,50), frumento (1,20), semi cotone integrale (1,50), farina soia estrazione (3,20), cruscame di grano (1,20), mais granella (2,50), complesso vitaminico (0,16), melassa (0,50), mangime (0,50), trinciato misto erbaio (4,0), mais trinciato (27): totale ingredienti 43,76 kg/capo e sostanza secca 21,22%. Detta razione dal punto di vista dei principali componenti non ha subito variazioni significative nel corso del periodo di osservazione. In detto allevamento storicamente si segnala la comparsa di casi di clostridiosi, sotto forma di "morte improvvisa" e mastite a carattere gangrenoso. I fenomeni hanno subito una certa recrudescenza a seguito del passaggio dall'alimentazione tradizionale a regime di unifeed. A far tempo dal 2001 sono stati raccolti i dati inerenti la patologia clostridiale. La diagnosi è stata eseguita attraverso accertamenti di ordine clinico, necroscopico e di laboratorio. A quest'ultimo riguardo dai soggetti colpiti da "morte improvvisa" è stato raccolto il contenuto intestinale, posto in contenitori riempiti fino all'orlo, chiusi ermeticamente e mantenuti refrigerati fino all'inoltro al laboratorio. L'esame colturale è stato eseguito di norma entro 12 ore dal decesso. Al fine della determinazione dell'intervento di *Clostridium spp.* è stata considerata una carica batterica <106 UFC/grammo di feci (5). La tipizzazione dei clostridi isolati in corso di malattia ha reiteratamente dimostrato la presenza di *Clostridium perfringens* biotipo A. In considerazione dei danni arrecati dalla patologia, a far tempo dal gennaio 2003, è stato deciso di applicare su tutto l'organico la vaccinazione verso i clostridi che ha previsto l'intervento con vaccino MILOXAN (Merial), attraverso un intervento di sensibilizzazione (priming), uno di richiamo (booster) ed ulteriori interventi di richiamo eseguiti a cadenza semestrale. Inoltre, a far tempo dal gennaio 2004, si è provveduto ad installare sulla condotta idrica che alimenta la stalla il dispositivo SOP WAS[®], ottenuto applicando il brevetto SIRIO OPERATING PROCESS[®]. Detto dispositivo agisce attraverso la modulazione di onde elettromagnetiche ed è accreditato della capacità di elevare il tenore di ossigeno nell'acqua, migliorandone le caratteristiche aerobiche, il che comporta una riduzione della carica microbica totale, con particolare riferimento alla componente anaerobia. Questo crea il presupposto per configurare una applicazione in vivo volta ad ottenere il controllo della patologia clostridiale. La strutturazione logistica dell'allevamento, costituito da due nuclei produttivi separati (A: 194 capi e B: 204 capi), con alimentazione idrica indipendente, pur proveniente dallo stesso pozzo aziendale, ha consentito di posizionare il presidio in parola sulla condotta idrica di un solo gruppo (A), mantenendo inalterata la condotta del secondo gruppo (B). Considerando che non sono state applicate altre variabili nei due gruppi, ciò ha posto le condizioni per valutare l'azione del presidio in parola nel controllo della patologia clostridiale nel corso di 12 mesi di osservazioni post-installazione.

TABELLA 1

Dati relativi a casi di c/ostridiosi (morte improvvisa e mastite gangrenosa) rilevati nel periodo 2001-2003.

	2001			2002			2003		
	Animali	Clostridi	Mastite gangrenosa	Animali	Clostridi	Mastite gangrenosa	Animali	Clostridi	Mastite gangrenosa
Gennaio	421	1 (0.2%)	0	418	0	1 (0.2%)	411	0	0
Febbraio	417	3 (0.7%)	0	421	3 (0.7%)	1 (0.2%)	411	1 (0.2%)	0
Marzo	416	0	1 (0.2%)	419	3 (0.7%)	0	414	1 (0.2%)	0
Aprile	414	1 (0.2%)	0	422	0	1 (0.2%)	412	0	0
Maggio	411	2 (0.5%)	1 (0.2%)	424	4 (0.9%)	2 (0.5%)	412	2 (0.5%)	0
Giugno	409	4 (0.9%)	1 (0.2%)	419	6 (1.4%)	0	414	2 (0.5%)	0
Luglio	412	5 (1.2%)	3 (0.7%)	422	9 (2.1%)	2 (0.5%)	415	4 (0.9%)	2(0.5%)
Agosto	409	4 (0.9%)	2 (0.5%)	418	2 (0.5%)	0	412	1 (0.2%)	0
Settembre	411	3 (0.7%)	0	420	1 (0.2%)	2 (0.5%)	413	2 (0.5%)	1 (0.2%)
Ottobre	412	1 (0.2%)	0	422	0	1 (0.2%)	410	2 (0.5%)	0
Novembre	414	1 (0.2%)	0	420	3 (0.7%)	0	412	0	0
Dicembre	411	3 (0.7%)	0	423	1 (0.2%)	0	411	1 (0.2%)	0
TOTALE	413	28 (6.8%)	8 (1.9%)	420	32 (7.6%)	10 (2.4%)	412	16 (3.9%)	3 (0.7%)

Le prevalenze di patologia clostridiale osservate nei diversi periodi e, per quanto attiene all'anno 2004, nei due gruppi (A e B) sono stati sottoposti a valutazione statistica mediante calcolo del test chi-quadrato.

RISULTATI

In tabella 1 sono riportati i dati relativi alla comparsa di clostridiosi (morte improvvisa e mastite gangrenosa) nel corso del periodo 2001-2003. I dati riguardanti detto periodo si riferiscono al complesso degli animali adulti presenti in allevamento.

TABELLA2

Dati relativi a casi di c/ostridiosi (morte improvvisa e mastite gangrenosa) rilevati nel periodo 2004.

	GRUPPO A			GRUPPO B		
	Animali	Clostridi	Mastite gangrenosa	Animali	Clostridi	Mastite gangrenosa
Gennaio	194	0	0	202	1 (0.5%)	0
Febbraio	193	0	0	201	0	1 (0.5%)
Marzo	194	0	1 (0.5%)	203	0	0
Aprile	196	0	0	205	1 (0.5%)	0
Maggio	196	1 (0.5%)	0	204	0	0
Giugno	192	0	0	206	2 (0.9%)	1 (0.5%)
Luglio	193	2 (1.0%)	0	206	1 (0.5%)	0
Agosto	193	0	1 (0.5%)	203	0	0
Settembre	195	0	0	204	3 (1.5%)	0
Ottobre	195	0	0	205	0	0
Novembre	196	0	0	204	0	0
Dicembre	193	0	0	203	0	0
TOTALE	194	3 (1.5%)	2 (1.0%)	204	8 (3.9%)	2 (0.9%)

In tabella 2 sono indicati i dati riferiti all'anno 2004. In considerazione dell'introduzione della variabile relativa al trattamento dell'acqua di abbeverata, avvenuta nel corso del 2004, i dati riferiti a detto periodo sono stati scorporati in ragione dei due diversi gruppi caratterizzati da un approvvigionamento idrico difforme (A e B). In ogni caso, è stata eseguita una distribuzione mensile dei casi clinici di clostridiosi.

I dati ottenuti indicano una sostanziale uniformità circa la prevalenza di clostridiosi clinica nel corso del biennio 2001-2002, periodo in cui non erano state poste in essere misure di controllo specifiche. A seguito dell'introduzione della vaccinazione, avvenuta nel 2003, si assiste ad una significativa (chi-quadrato, $p < 0,01$) riduzione nella prevalenza di clostridiosi, sia per quanto attiene all'espressione clinica rappresentata da morte improvvisa che da mastite gangrenosa. Per quanto attiene al 2004, si mantiene la tendenza complessiva alla riduzione della patologia clostridiale. Nel complesso i casi di morte improvvisa si attestano a 11 (2,8%) e quelli di mastite gangrenosa a 4 (1,0%). Dall'esame dei dati scorporati secondo i due gruppi, A e B, emerge come i casi di morte improvvisa siano rispettivamente 3 (1,5%) e 8 (3,9%). La differenza di prevalenza osservata nei due gruppi appare statisticamente significativa. In linea generale emerge come la maggior parte dei casi di enterotossiemia, manifestatasi come morte improvvisa, sia stata osservata durante i mesi estivi.

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

I dati ottenuti portano a formulare alcune considerazioni circa il controllo della clostridiosi nell'allevamento oggetto di studio, con ripercussioni di carattere generale circa il controllo della malattia nell'allevamento del bovino, da latte in particolare.

La clostridiosi rappresenta senza alcun dubbio una patologia in grado di arrecare danni rilevanti nell'ambito di un allevamento in cui si realizzino le condizioni per l'estrinsecarsi del potenziale patogenetico da parte di clostridi ad attitudine patogena.

I mesi estivi rappresentano il periodo di maggior incidenza della malattia, fatto che autorizza a considerare detto periodo quale fattore di rischio nei riguardi dell'insorgenza di enterotossiemie, in quanto si realizzano condizioni predisponenti-scatenanti la malattia.

In assenza di interventi di controllo la prevalenza della malattia subisce variazioni non significative, o comunque legate ad un complesso di situazioni non prevedibili, sulle quali pertanto non è possibile intervenire attivamente.

L'introduzione della vaccinazione ha comportato sia una significativa riduzione dei casi di morte improvvisa che di mastite gangrenosa, a dimostrazione che il vaccino è stato in grado di contenere l'azione delle tossine prodotte dai clostridi. Ciò indica come, nel caso dell'allevamento oggetto di studio, si sia realizzata una rispondenza in termini di omologia tra antitossine evocate dalla vaccinazione e tossine prodotte dai clostridi infettanti. Va osservato, comunque che, in seguito all'intervento vaccinale ed in assenza di ulteriori misure di controllo, residui una certa quota di patologia a carattere mortale.

L'integrazione della vaccinazione con l'installazione del presidio SOP WAS[®] ha comportato una riduzione dei casi di enterotossiemia (morte improvvisa) rispetto alla gestione della problematica mediante la sola vaccinazione. Questo porta a ritenere che detto presidio abbia comportato una riduzione nella proliferazione di clostridi patogeni, fatto che trova il suo razionale nell'attività sull'acqua di abbeverata in cui la liberazione di ossigeno ha prodotto.

Un ambiente enterico sfavorevole alla germinazione delle spore clostridiali e, di concerto, allo sviluppo e alla replicazione dei clostridi e conseguente produzione di tossine.

Il complesso delle informazioni acquisite conforta le comuni convinzioni circa la necessità di allestire un programma di controllo integrato delle clostridiosi, enterotossiemie in particolare. La vaccinazione è da considerare una risposta adeguata alla gestione del problema enterotossiemie del bovino. L'efficacia vaccinale è legata in primis all'omologia tra gli antigeni vaccinali e le tossine prodotte dai clostridi infettanti. In tal senso appare fondamentale produrre un continuo monitoraggio epidemiologico circa le caratteristiche tossinogeniche degli stipiti isolati. Di particolare interesse è oggi la valutazione circa la prevalenza di ceppi produttori di tossina beta 2 nell'ambito di *Cl. perfringens*. Ciò in quanto detta tossina è dotata di indiscusso potere patogeno e non trova rispondenza in alcun presidio vaccinale oggi commercialmente disponibile. Gli attuali orientamenti indicano nello studio gnomico dei ceppi isolati, attraverso la PCR, l'approccio

adeguato al raggiungimento dell'obiettivo (4). Posto ciò, va sottolineato come la vaccinazione di per sé non comporti il controllo della replicazione clostridiale. Pertanto, in corso di massiva replicazione clostridiale, seppur in presenza di vaccinazione omologa verso le tossine prodotte dal clostridio, è comprensibile che si realizzi un deficit immunitario di tipo quantitativo tra antitossine vaccinali e tossine, la cui entità condiziona la modulazione della malattia, sia intermini di prevalenza che di entità del quadro clinico evocato.

In sede di conclusioni ci pare di poter ribadire quanto già esposto in sede di premessa ovvero la convinzione che al fine di produrre un efficiente controllo delle clostridiosi, enterotossiemia del bovino in particolare, debba trovare applicazione un protocollo integrato che preveda la vaccinazione e nel contempo l'adozione di misure di ordine gestionale-alimentare atte a contenere l'assunzione di spore e/o lo sviluppo di forme vegetative tossinogeniche.