



5. DIAGNOSI

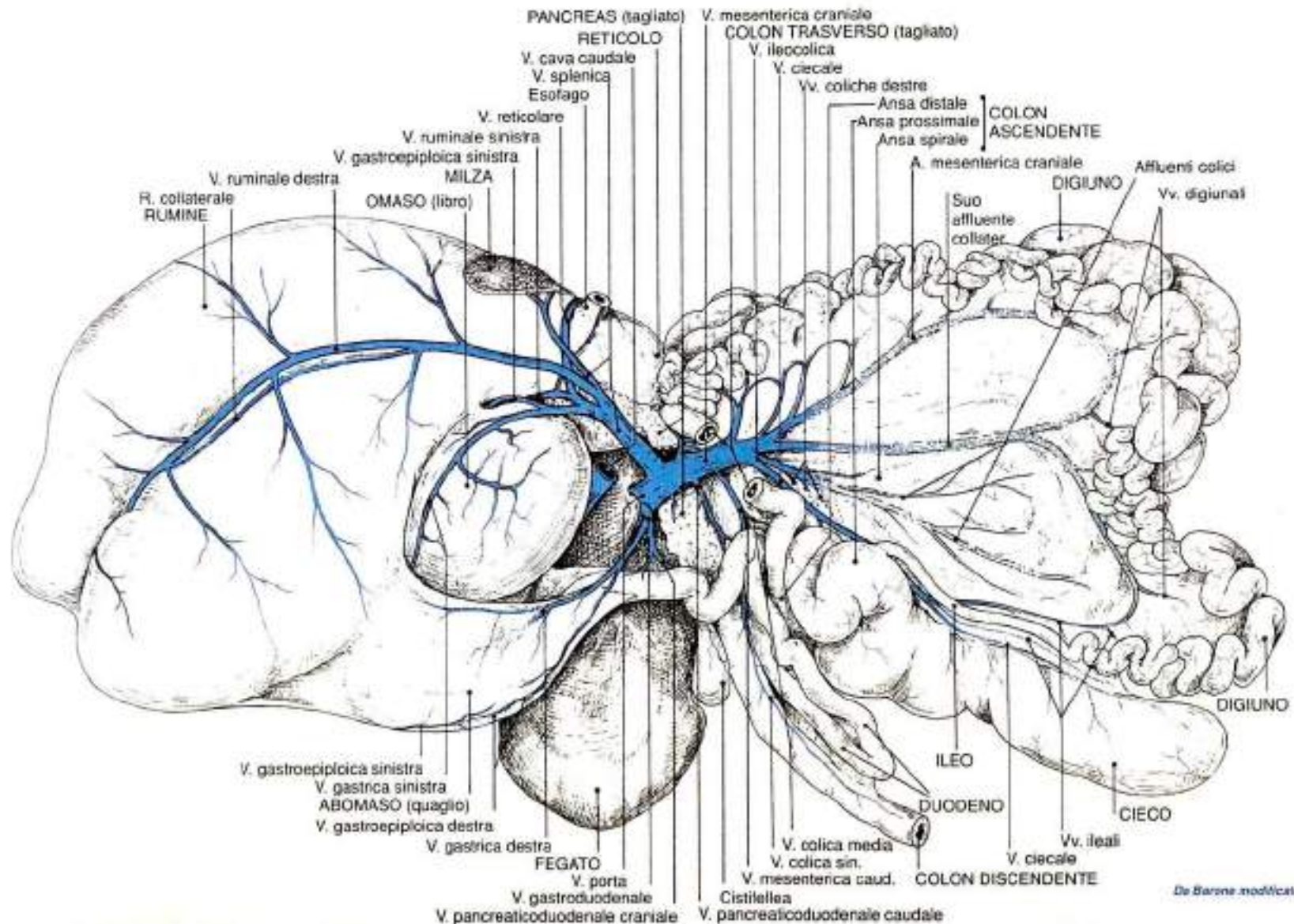
ENTEROTOSSIEMIA – *Clostridium perfringens*





5. DIAGNOSI

ENTEROTOSSIEMIA – *Clostridium perfringens*





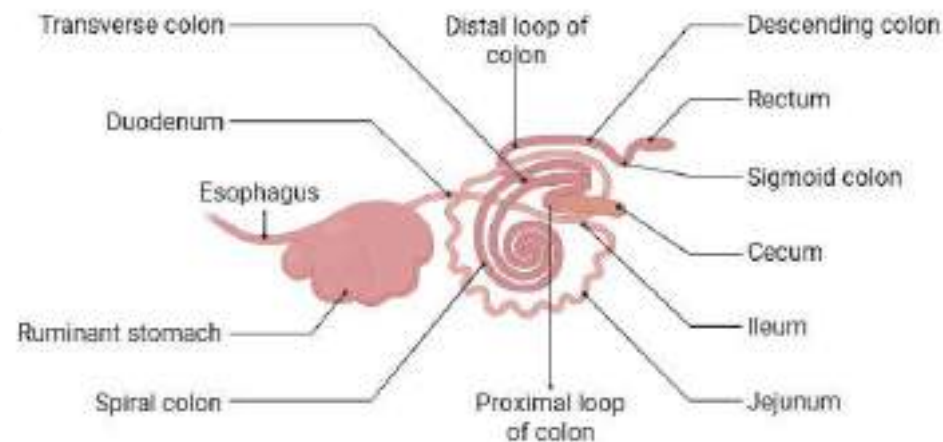
5. DIAGNOSI



ENTEROTOSSIEMIA – *Clostridium perfringens*

CAMPIONAMENTO

- CAMPIONAMENTO: - INTESTINO: prelievo di più tratti (digiuno), **ATT!!! INCLUDERE TRATTO COLPITO**
 - TESSUTI: includendo anche il tessuto sano che circonda la lesione
 - Versamenti cavitari (eventuale)
- CONTENITORI: a tenuta per i liquidi/sacchetti di plastica per i visceri → togliere aria residua
- TEMPERATURA DI TRASPORTO: Refrigerato per microbiologico (Congelamento?), Ambiente per istologico (tessuti già posti in FORMALINA)





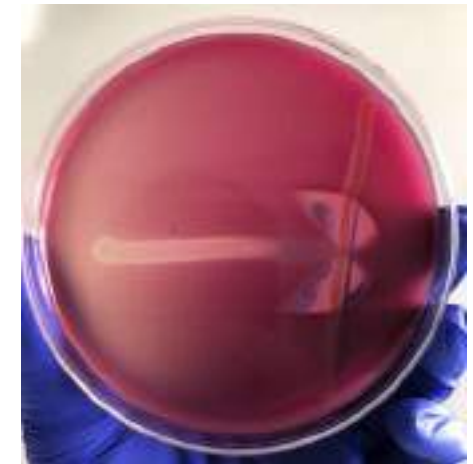
5. DIAGNOSI

ENTEROTOSSIEMIA – *Clostridium perfringens*

DIAGNOSI DI LABORATORIO

- COLTURALE IN ANAEROBIOSI, quantitativo da contenuto intestinale
- Colonie grandi (5 mm $\varnothing$), traslucide, doppia emolisi su BA $\rightarrow$ Reverse CAMP test

UFC/ml di contenuto intestinale	Tempo trascorso tra morte e prelievo			
	<3h	3h<t<6h	6h<t<15h	>15h
<10 ⁵	NO	NO	NO	Non interpretabile
10 ⁵ <n<10 ⁶	Dubbio	Dubbio	Dubbio	Non interpretabile
10 ⁶ <n<10 ⁷	SI	Dubbio	Dubbio	Non interpretabile
10 ⁷ <n<10 ⁸	SI	SI	Dubbio	Non interpretabile
>10 ⁸	SI	SI	SI	Non interpretabile



- Multiplex end-point* PCR per la ricerca dei geni codificanti le tossine (MAGGIORI e MINORI)

ESITO	GENI PER TOSSINE TIPIZZANTI				GENI PER TOSSINE NON TIPIZZANTI	
	cpb	cpa	itxA	etx	cpe	cpb2 (beta2)
TIPO A		X				X
TIPO B	X	X		X	X	X
TIPO C	X	X			X	X
TIPO D		X		X	X	X
TIPO E		X	X		X	X
TIPO F		X			X	



5. DIAGNOSI



BOTULISMO – *Clostridium botulinum*

Diagnosi difficile, soprattutto clinica

DIAGNOSI DIFFERENZIALE: IpoCa, IpoMg, IpoK, eccessi CHO, carenze di Se, tossicosi (micotossine, Pb, nitrati, organofosfati, atropina/alcaloidi atropina-like)

SINTOMI: debolezza, anomala postura della testa, ipotonia della lingua (problemi deglutizione e/o disfagia), RIDOTTA SALIVAZIONE, ipotonia ruminale, pupille dilatate, bradicardia e paralisi progressiva (posteriore → anteriore → decubito da sternale a laterale)

MAI IPERTERMIA!!!

PDI: 18-24 h → 30 gg



5. DIAGNOSI

BOTULISMO – *Clostridium botulinum*





5. DIAGNOSI

BOTULISMO – *Clostridium botulinum*





5. DIAGNOSI

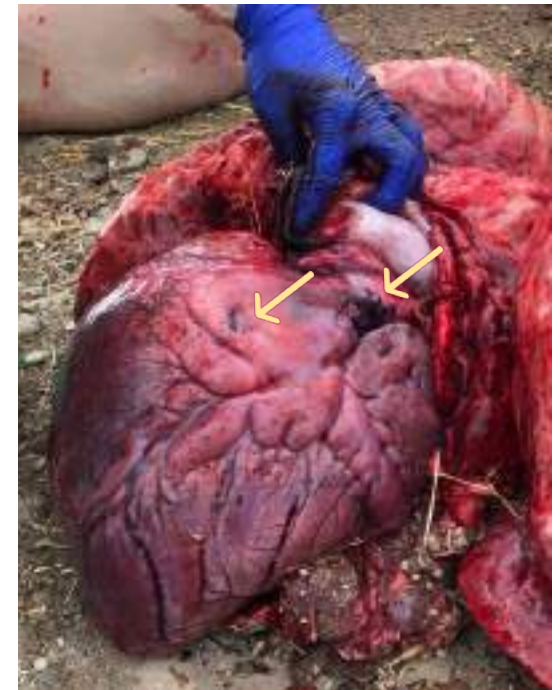
BOTULISMO – *Clostridium botulinum*





5. DIAGNOSI

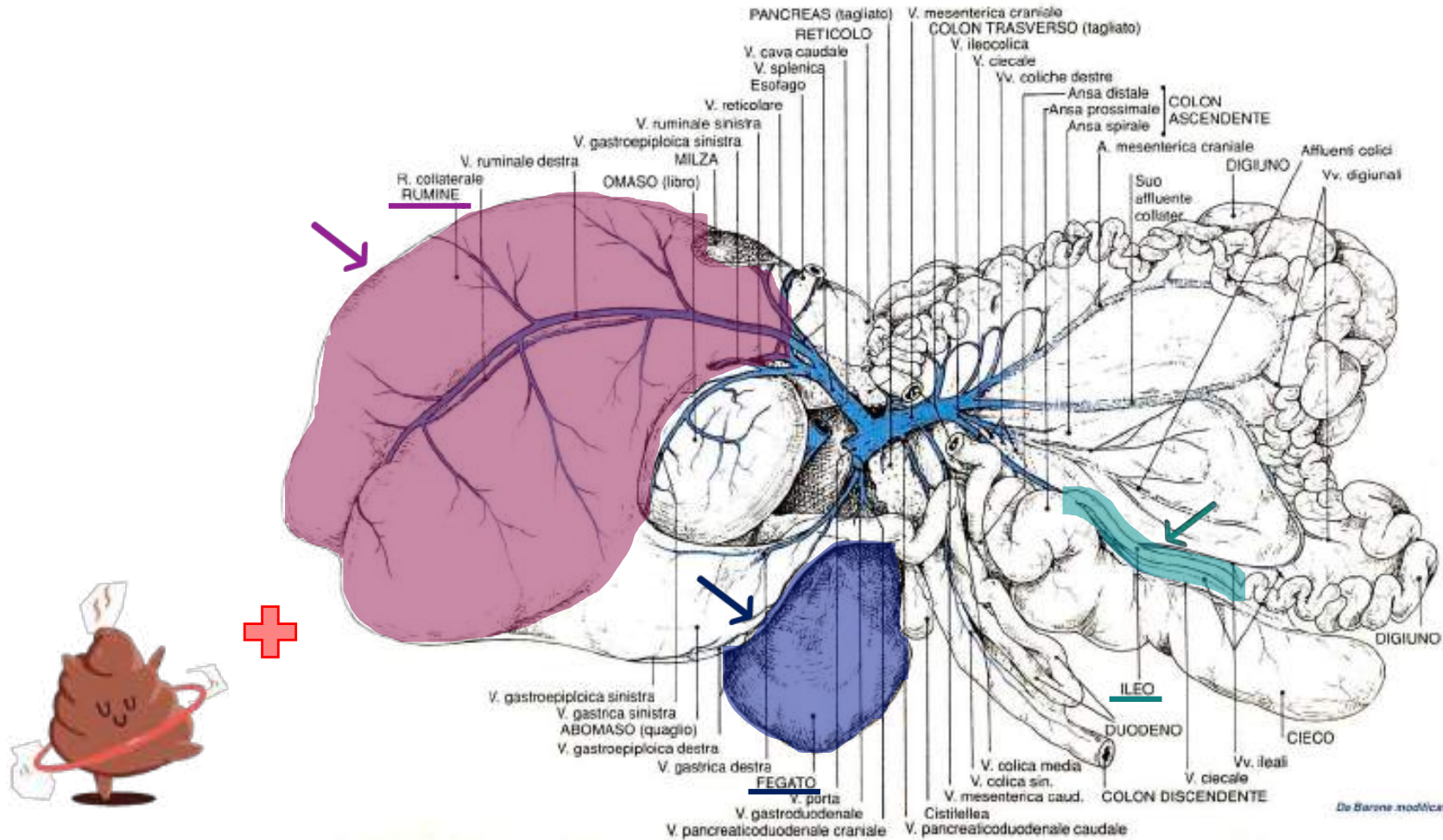
Clostridium botulinum:





5. DIAGNOSI

BOTULISMO – *Clostridium botulinum*





5. DIAGNOSI

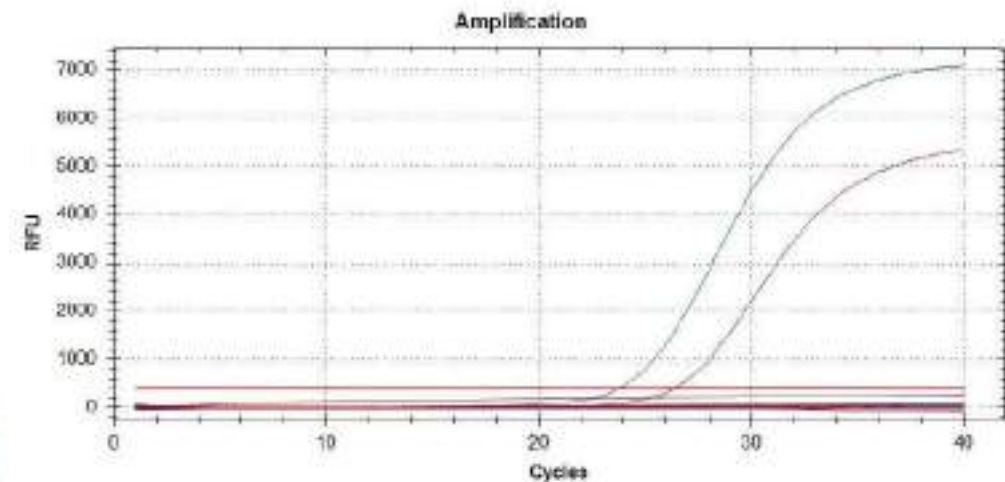


BOTULISMO – *Clostridium botulinum*

DIAGNOSI DI LABORATORIO

Metodo colturale e *mouse test* – CNRB 30.012 rev. 2 del 2021 ed antecedenti

Multiplex Real-time PCR – CNRB 31.012 rev. 2 2021 ed antecedenti



6. SITUAZIONE EMILIA- ROMAGNA (AREA PARMIGIANO REGGIANO)



ISTITUTO ZOOPIROFILATTICO Sperimentale
DELLA LOMBARDIA E DELL'EMILIA ROMAGNA
"Grandi Sistemi"
ENTE SANITARIO DI DIRITTO PUBBLICO

Sede Centrale Brescia
Via Biancamano, 11 - 25124 Brescia - Italy
T. +39 030 225811 - F. +39 030 2425291
in fax 030 2425291 - www.izs.it

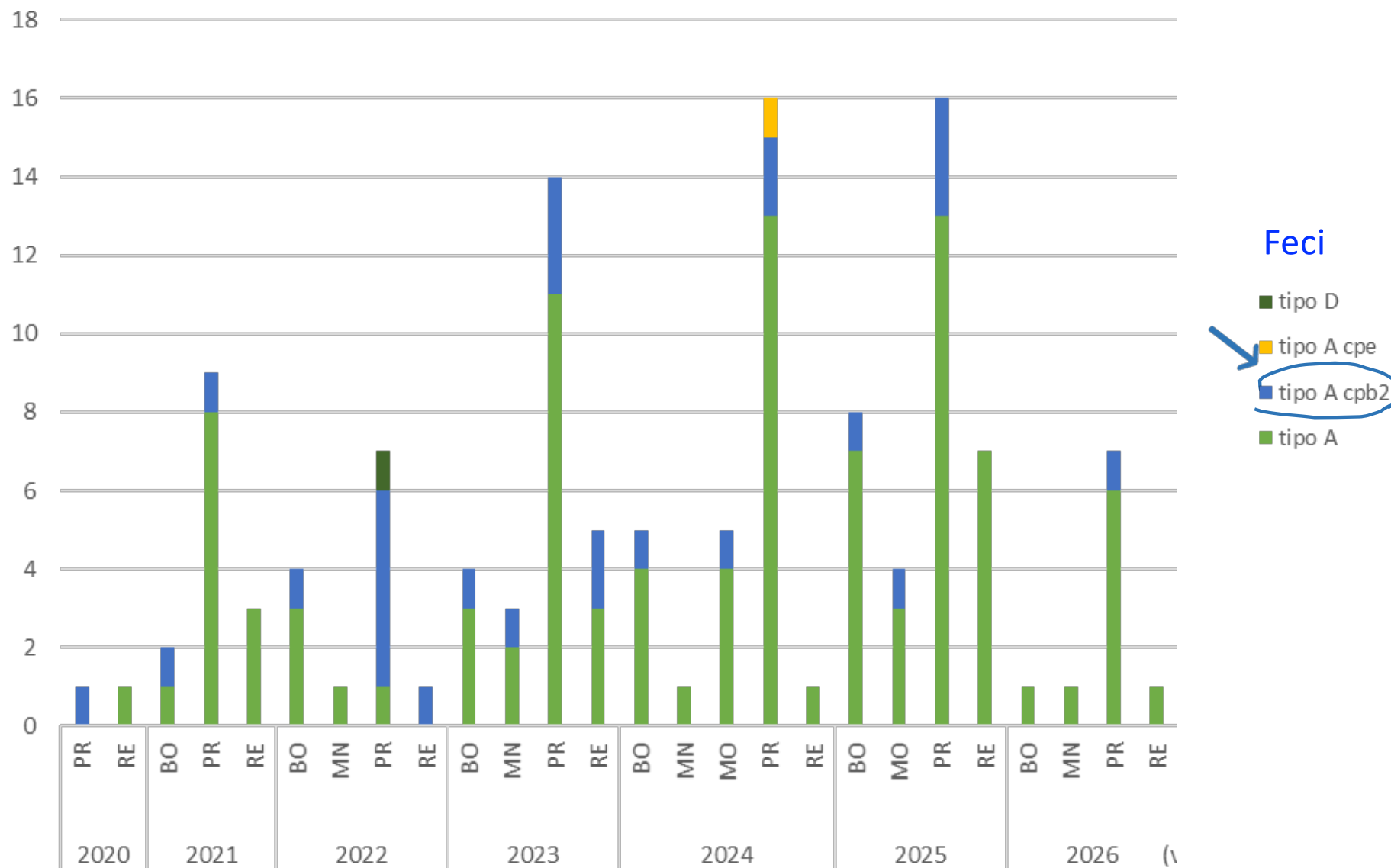
**PARMIGIANO
REGGIANO**



6. SITUAZIONE EMILIA-ROMAGNA (AREA PARMIGIANO REGGIANO)



Enterotossiemia – *Clostridium perfringens*



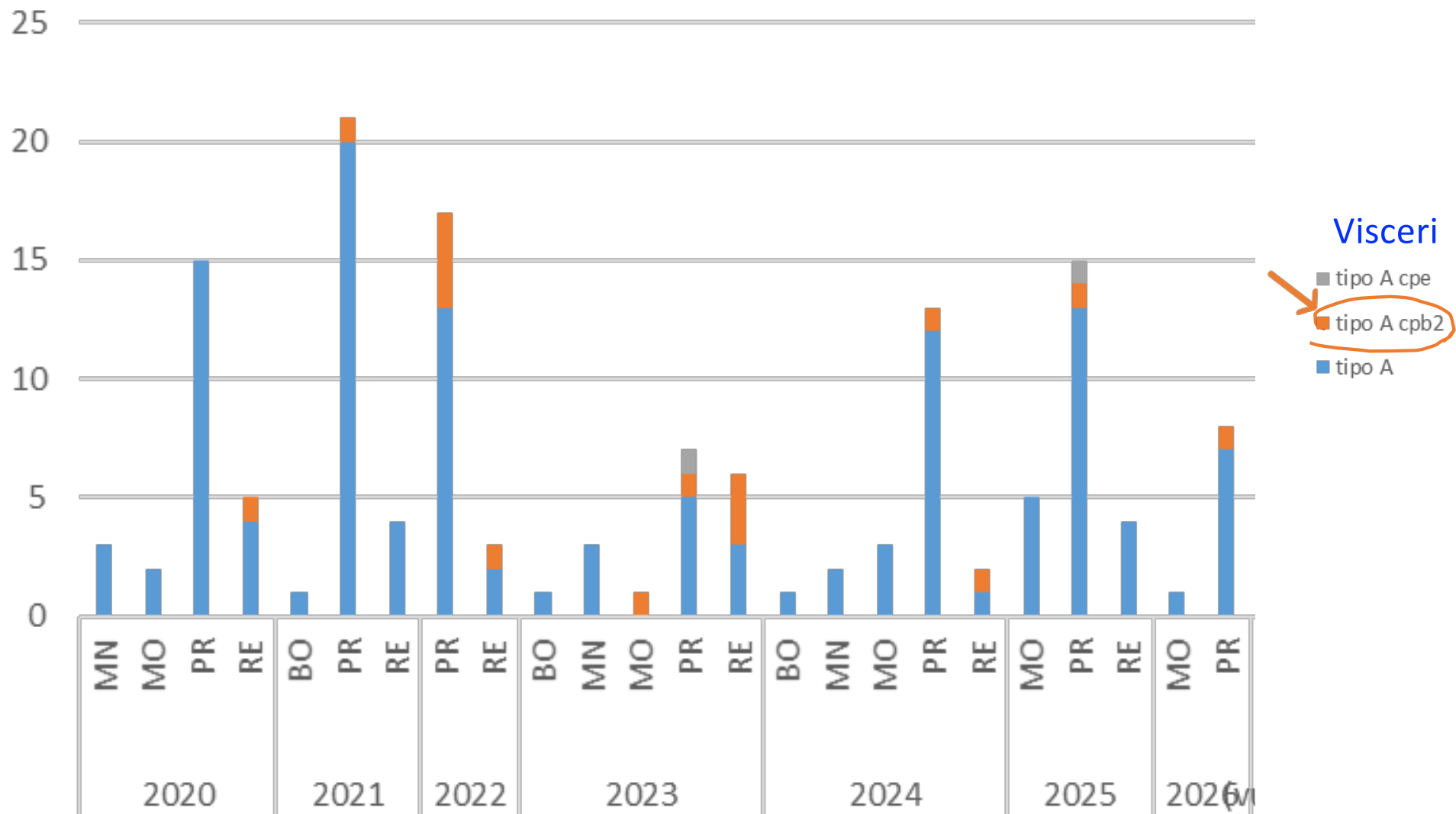
128 isolati – 2020-2026



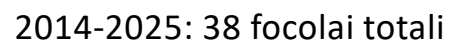
6. SITUAZIONE EMILIA-ROMAGNA (AREA PARMIGIANO REGGIANO)



Enterotossiemia – *Clostridium perfringens*



143 isolati – 2020-2026







6. SITUAZIONE EMILIA-ROMAGNA (AREA PARMIGIANO REGGIANO)



Botulismo bovino – *Clostridium botulinum*

Prov.	Comune	2014	2015-2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023	2024	2025	Totale
BO	Castenaso	1										1
PC	Alseno	1								1		2
	Cadeo			1°				2	1*			4
	Carpaneto P.							1	1			2
	Castell'Arquato										2	2
	Fiorenzuola Arda							1		1		2
	Rivergaro								1			1
	Villanova Arda					1						1
PR	Busseto			1		2			1			4
	Colorno						1					1
	Fidenza			1		2	1*	3	1*			8
	Fontanellato				1°							1
	Noceto					1	1					2
	Parma				1							1
	Polesine-Zibello					1						1
	Roccabianca									1		1
	Solignano									1		1
	Soragna							1				1
RE	S.Ilario d'Enza									1		1
MO	Novi di Modena									1		1
Tot.		2	0	3	2	7	3	8	5	6	2	38

7. GESTIONE AZIENDALE E FATTORI DI RISCHIO





7. GESTIONE AZIENDALE E FATTORI DI RISCHIO



ENTEROTOSSIEMIA – *Clostridium perfringens*

RUMINE: Fermentazioni anomale → > velocità di transito alimenti

INTESTINO: Amido non degradato + Blocco della peristalsi + pH basico → Alterazione della flora

- CONTAMINAZIONE DEGLI ALIMENTI: terra/micotossine/qualità dell'acqua
- GESTIONE ~~DELL'~~INSILATO
- DIETA PIANIFICATA vs ASSUNZIONE EFFETTIVA: «Slug Feeding»/Cernita → *overflow* di carboidrati/proteine
- CONDIZIONI PATOLOGICHE
 - Parassitosi intestinali
 - BVDV/BCoV
 - Insuff epatica/pancreatica (acidi biliari/tripsina)
 - Immunodepressione/Stress





7. GESTIONE AZIENDALE E FATTORI DI RISCHIO

BOTULISMO – *Clostridium botulinum*

→ Punti critici: operazioni di fienagione; depopolamento dei sinantropi; gestione delle lettiere e dei domestici presenti in azienda; **PERCEZIONE DEL RISCHIO!!!**



Progetto AUTOFIN_BOTULBOV - Cattle botulism check-list:

Indagini epidemiologiche e campionamenti attivi per lo studio delle dinamiche intra- ed inter-focolaio & per valutare e misurare i livelli di biosicurezza e i fattori di rischio condivisi tra le aziende focolaio



- Utilizzo del letame aziendale come fertilizzante in corso di focolaio
- Depopolamento sinantropi/gestione delle carcasse
- Corretta applicazione del protocollo vaccinale
- Abbondanza di animali selvatici
- Foraggi prodotti nell'area di rischio

8. VACCINI





8. VACCINI



Vaccini commerciali registrati in Italia – *Clostridium* spp.

■ Vaccini batterici inattivati – VACCINO DECAVALENTE – 2 DITTE COMMERCIALI:

→ *Clostridium perfringens* tipo A (tossoidi α); B e C (tossoidi β); D (tossoidi ϵ); *Clostridium chauvoei* (anacoltura inattivata); tossoidi *Clostridium novyi* tipo B; tossoidi *Clostridium septicum*; tossoidi *Clostridium sordellii*; tossoidi *Clostridium haemolyticum*; tossoidi *Clostridium tetani*.

→ Ovino e Bovino

■ Vaccini batterici inattivati – VACCINO NONAVALENTE (DITTA 3):

→ *Clostridium perfringens* tipo A (tossoidi α); C (tossoidi β); D (tossoidi ϵ); *Clostridium chauvoei* (anacoltura inattivata); tossoidi *Clostridium novyi* tipo B; tossoidi *Clostridium septicum*; tossoidi *Clostridium sordellii*; tossoidi *Clostridium tetani*.

→ Ovino

■ Vaccini batterici inattivati – VACCINO OTTAVALENTE (DITTA 4):

→ *Clostridium perfringens* tipo B e C (tossoidi β); D (tossoidi ϵ); *Clostridium chauvoei* (anacoltura inattivata); tossoidi *Clostridium novyi*; tossoidi *Clostridium septicum*; tossoidi *Clostridium sordellii*; tossoidi *Clostridium tetani*.

→ Ovicapri e Bovino

■ Vaccini batterici inattivati – VACCINO EPTAVALENTE (DITTA 5):

→ *Clostridium perfringens* tipo B e C (tossoidi β); D (tossoidi ϵ); *Clostridium chauvoei* (anacoltura inattivata); *Clostridium novyi* tipo B e D (anacoltura inattivata e tossoidi); tossoidi *Clostridium septicum*; tossoidi *Clostridium tetani*.

→ Ovino e Bovino





8. VACCINI

Vaccini commerciali – *Clostridium botulinum*

Table 1. List of Botulism Vaccines

Product Name	BoNT Type	Animal Species	Dosage		Producer
Ultravac botulinum	C D	Cattle Sheep	2.5 ml cattle 1.0 ml sheep	1st dose; 2nd dose after: 4-6 weeks Annual booster	Pfizer Animal Health
Longrange	C D	Cattle	2.5 ml	1st dose from 6 weeks Annual booster	Pfizer Animal Health
Singvac 1-year botulinum	C D	Cattle	2.0 ml	1 dose Annual booster	Virbac Animal Health
Singvac 3-year botulinum	C D	Cattle	2.0 ml	1 dose Booster after 36 months	Virbac Animal Health
Welboost LV Bivalent botulinum	C D	Cattle Sheep	2.0 ml cattle 1.0 ml sheep	1st dose; 2nd dose after: 4-6 weeks Annual booster	Virbac Animal Health
Botulism Vaccine	C D	Cattle Horses Mules Sheep Goats	1.0 ml sheep and goats 2.0 ml cattle, horses, and mules	1st dose; 2nd dose after: 4-7 weeks Annual booster	Onderstepoort Biological Products
Botvax B	B	Horses	2.0 ml	3 doses at 1-month intervals Annual booster	Neogen Corporation
Febrivac 3 plus	C	Mink	1.0 ml	Single dose Annual booster	Impfstoffwerk Dessau-Tornau GmbH
Biocom- D	C	Mink	1.0 ml	Single dose, Booster as kit vaccination	United Vaccines, Inc.
Biocom- P	C	Mink	1.0 ml	Single dose, Booster as kit vaccination	United Vaccines, Inc.
Biocom	C	Mink	1.0 ml	Single dose, Booster as kit vaccination	United Vaccines, Inc.
Botumink	C	Mink	1.0 ml	Single dose, Booster as kit vaccination	United Vaccines, Inc.

Autorizzazione MS x importazione/impiego vaccini autorizzati in altro Stato Membro della UE o in un Paese Terzo

D.Lgs n. 193/2006 art.7 e ss.mm.ii., in deroga Reg. 2019/6-art.106 par.1 e D.Lgs. n. 218/2023-art.5 comma 1; nota del Ministero della Salute 0009460-07/03/2024-DGSAF-MDS-P





8. VACCINI

Vaccini stabulogeni



- ART.1: «vaccini stabulogeni, medicinali veterinari ad azione immunizzante preparati per microrganismi patogeni e/o antigeni isolati da soggetti colpiti dalla forma infettiva dominante in quel determinato allevamento ed impiegati per trattare tale allevamento ed allevamenti dello stesso territorio, qualora il veterinario lo ritenga opportuno per documentati motivi epidemiologici» impiegati «esclusivamente per motivi contingenti, limitatamente a particolari situazioni patologiche ed epidemiologiche accertate e di conduzione dei singoli allevamenti o animali»
- ART.3: «La produzione di vaccini stabulogeni ed autovaccini, previo rilascio di specifica autorizzazione da parte del Ministero della Sanità, può essere effettuata esclusivamente dagli Istituti Zooprofilattici Sperimentali nel quadro delle loro specifiche competenze»

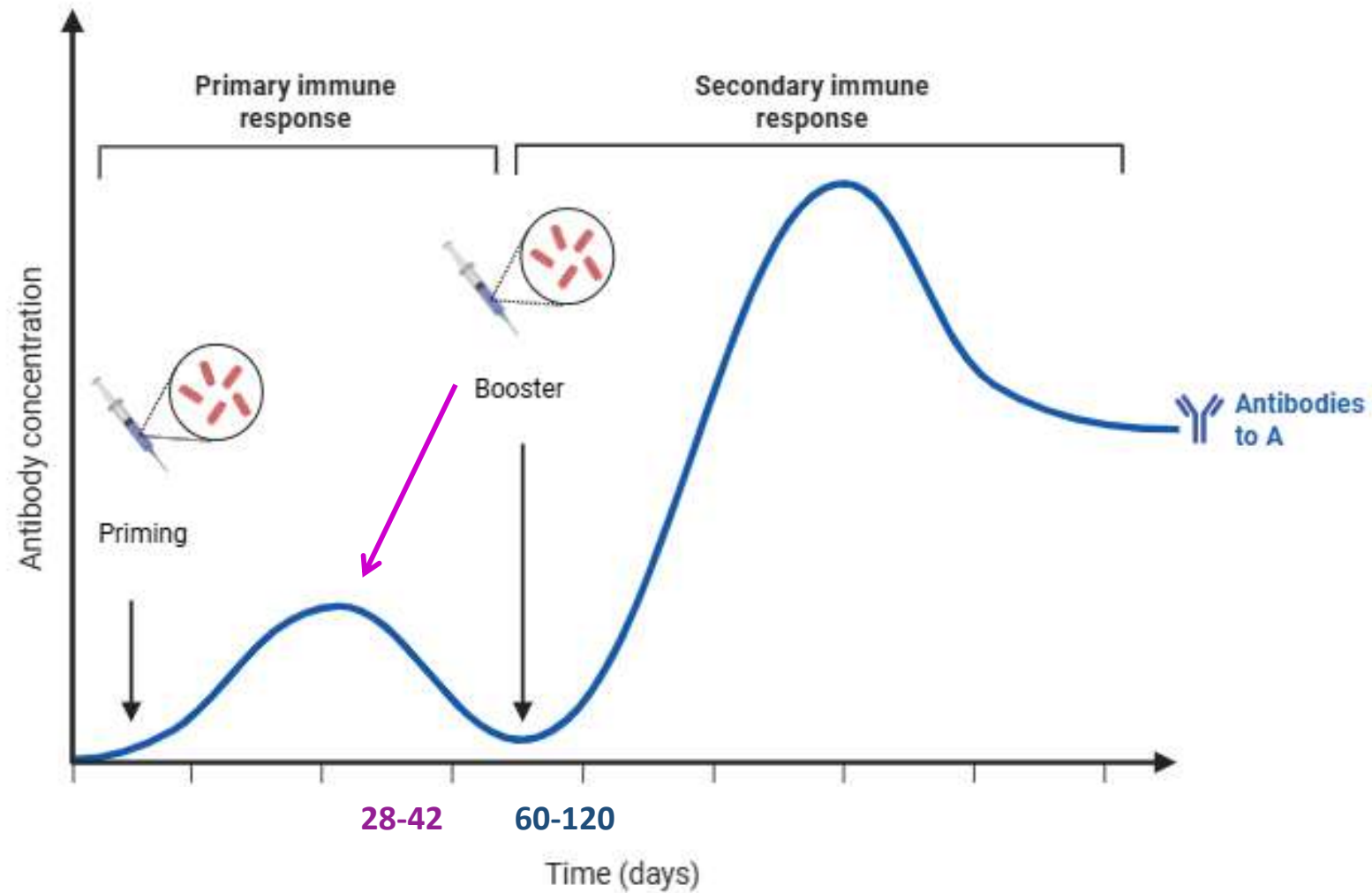
→ PC-PR: Autorizzazione da parte del Servizio Veterinario Ufficiale alla vaccinazione preventiva/richiami annuali con vaccini stabulogeni o prodotti contenenti anatossine di *C. botulinum* di tipo C e D autorizzati in altri Stati Membri dell'Unione Europea o in Paesi Terzi





8. VACCINI

Vaccini per clostridi

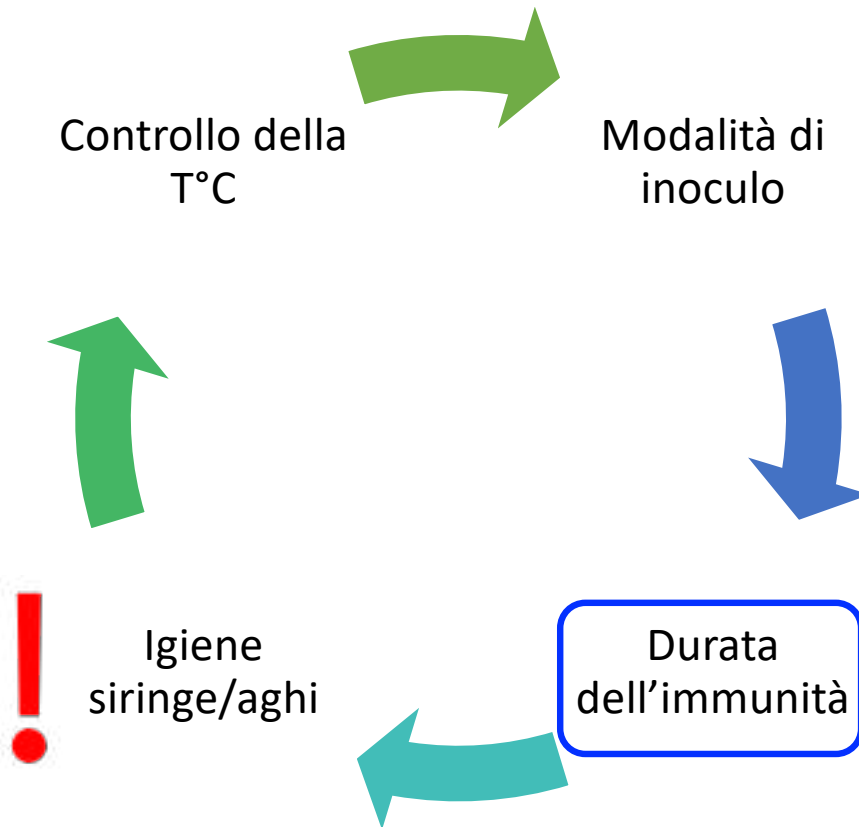




8. VACCINI



Efficacia vaccinale e punti critici – es. *C. perfringens*



- Rapido declino dell'immunità vaccinale
- Richiamo annuale insufficiente (animali scoperti per diversi mesi prima della successiva somministrazione)
- Scelta mirata del vaccino commerciale (preparazioni che includano il Tipo A vs tipi B, C e D)
- Mancanza di protezione crociata (tossoidi di tipo C e D non forniscono una protezione crociata soddisfacente contro le tossine del tipo A) → inefficacia dei vaccini
- Mancanza di protezione per tossine non-tipizzanti (enterotossina-cpe e Beta2-cpb2)
- Interferenza dell'immunità materna

→ VACCINE FAILURE vs FAILURE IN VACCINATION





Grazie per l'attenzione!!!