

<b>IZSLER</b> LNR per la Tuberculosis Bovina CRN per la Tuberculosis da <i>M.bovis</i>	<b>PROCEDURA PER L'ESECUZIONE  DELLA PROVA TUBERCOLINICA  NELLA SPECIE BOVINA</b>	Rev. 0 Data pubblicazione: 26/06/2023 Pag. 1 di 4
--	---	--

### Campo di applicazione

Sono previsti i seguenti test intradermici (Allegato III del Reg.Del. UE 689/2020) come prove diagnostiche ufficiali per la rilevazione di infezione da *Mycobacterium tuberculosis* complex nella specie bovina:

- i. Prova di intradermotuberculinizzazione singola (IDTs): questa prova richiede un'unica inoculazione intradermica della tubercolina bovina. E' la prova diagnostica ufficiale con la sensibilità più elevata e va utilizzata come prova di riferimento per l'acquisizione ed il mantenimento dello status di indennità degli stabilimenti e per i controlli sui capi soggetti a movimentazione.
- ii. Prova di intradermotuberculinizzazione comparativa (IDTc): questo test richiede un'iniezione di tubercolina bovina e un'iniezione di tubercolina aviaria somministrata simultaneamente. E' la prova diagnostica ufficiale con la specificità più elevata e può essere utilizzata nell'ambito delle indagini sui casi sospetti o per il mantenimento della qualifica in stabilimenti che storicamente mostrano reattività non confermate alla IDT singola.

Si ricorda che ai sensi del Reg.Del. UE 689/2020 per "bovino" o "animale della specie bovina" si intende un animale di una delle specie di ungulati appartenenti ai generi *Bison*, *Bos* (compresi i sottogeneri *Bos*, *Bibos*, *Novibos* e *Poephagus*) e *Bubalus* (compreso il sottogenere *Anoa*) nonché un animale derivato dall'incrocio di tali specie.

L'antigene per la prova intradermica della tubercolina è un derivato proteico purificato (PPD) denominato "tubercolina". Questo reagente è un preparato ottenuto dai prodotti trattati termicamente della crescita e della lisi del *Mycobacterium bovis* (PPD bovino) o *M. avium* (PPD aviaria).

### Esecuzione delle prove di intradermoreazione alla tubercolina

#### 1. Operazioni preliminari

Il veterinario ufficiale o formalmente incaricato all'esecuzione della prova provvede alle seguenti operazioni:

- a) verifica della corretta registrazione dello stabilimento in BDN e controllo degli esiti delle prove ufficiali precedentemente effettuate e del rispetto degli eventuali provvedimenti emanati;
- b) raccolta e registrazione delle informazioni relative allo stabilimento e di ogni altro dato utile ai rilievi diagnostici ed epidemiologici: tipologia produttiva dello stabilimento, consistenza totale e numero degli animali di età superiore a sei settimane, qualifica sanitaria dello stabilimento e movimenti di capi in entrata ed uscita dopo l'ultimo controllo;
- c) esame clinico (semiologia della collettività), verifica del rispetto della normativa vigente in materia di identificazione e registrazione (D.Lgs. 134/2022) dei singoli soggetti presenti, compresi quelli al di sotto dell'età diagnostica (sei settimane)

#### 2. Materiali

- Tosatrice elettrica o rasoio
- Cutimetro a molla (analogico o digitale)
- Siringhe sterili o sistema di iniezione intradermica automatica multi-dose convalidato
- Siringhe sterili (5 ml) e aghi sterili (20G)
- Derivati proteici purificati bovini e aviari convalidati (PPD)
- Guanti, carta assorbente, contenitore bio-sanitario
- Borse per il trasporto termico
- Sistema per la registrazione delle misure

<b>IZSLER</b> LNR per la Tuberculosis Bovina CRN per la Tuberculosis da <i>M.bovis</i>	<b>PROCEDURA PER L'ESECUZIONE  DELLA PROVA TUBERCOLINICA  NELLA SPECIE BOVINA</b>	Rev. 0 Data pubblicazione: 26/06/2023 Pag. 2 di 4
--	---	--

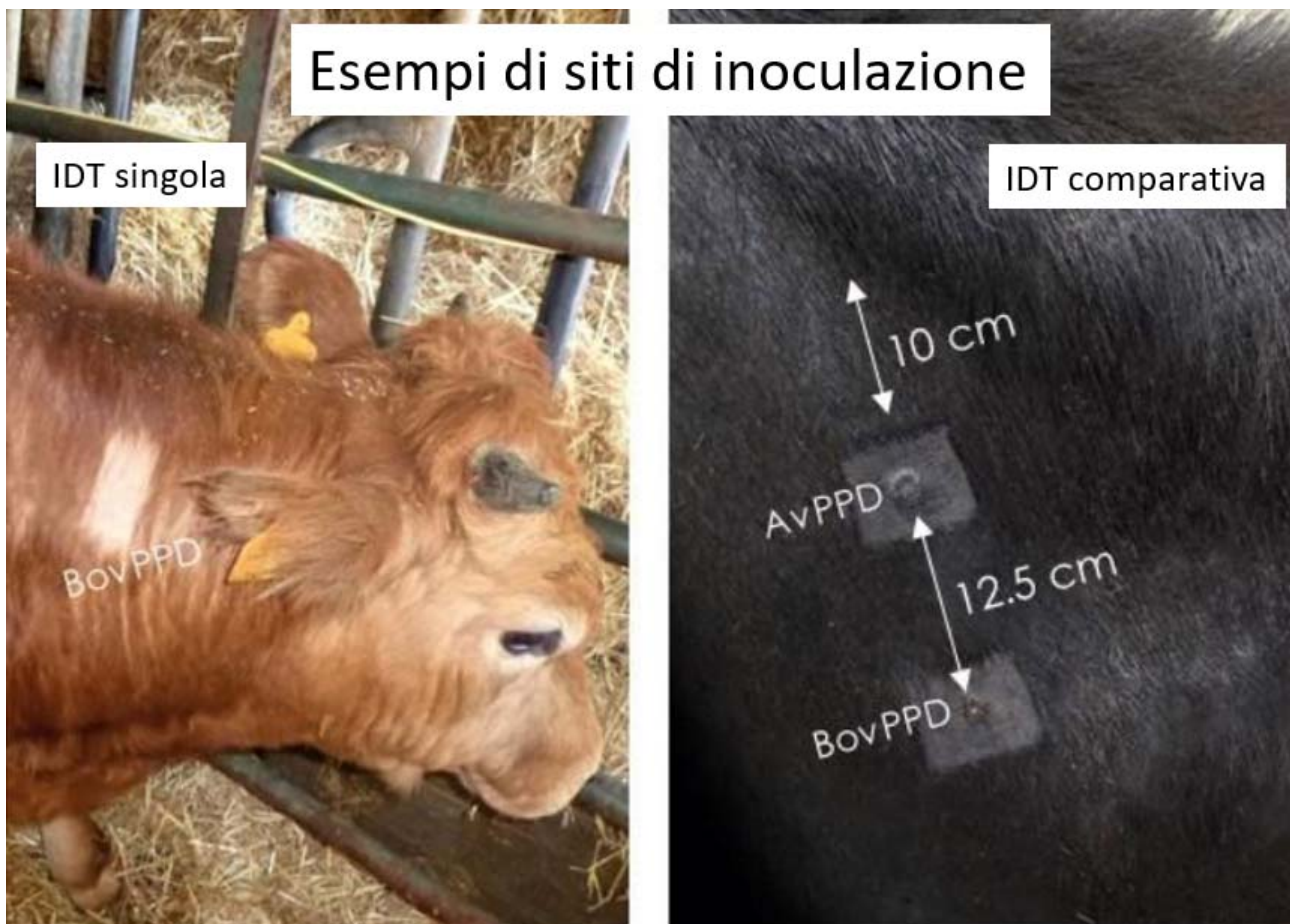
Le apparecchiature devono essere sottoposte a manutenzione ordinaria, taratura e disinfezione secondo le istruzioni del fabbricante.

### 3. Tecnica

I siti di iniezione o inoculazione devono essere correttamente tosati o rasati e puliti. L'area di circa 5 cm<sup>2</sup> deve essere priva di macchie, ferite o altre alterazioni cutanee che potrebbero interferire con i risultati del test.

Prendere fra il pollice e l'indice una piega della pelle in ciascuna delle zone tostate, misurare lo spessore con il cutimetro e registrare il risultato.

I siti di inoculazione devono essere situati sul bordo tra il terzo anteriore e il terzo medio del collo. Quando la tubercolina aviaria e quella bovina sono iniettate nello stesso animale, il sito per l'iniezione della tubercolina aviaria deve trovarsi a circa 10 cm dalla cresta del collo e il sito per l'iniezione della tubercolina bovina circa 12,5 cm più in basso su una linea approssimativamente parallela alla linea della spalla o su lati diversi del collo. Negli animali giovani, sul cui collo non vi è abbastanza spazio per effettuare l'inoculazione delle due tubercoline a distanza sufficiente sullo stesso lato, le inoculazioni verranno eseguite ai due lati del collo, nel centro del terzo centrale, in siti identici.



Nel caso particolare di animali in stabulazione fissa o in cui il collo è sottoposto a fenomeni di sfregamento con catene, collari, ecc., è preferibile effettuare l'inoculazione nella spalla, 5 cm posteriormente alla spina acromiana. Per motivi di sicurezza dell'operatore questo sito di inoculazione può essere utilizzato anche per i bufali o altri bovini dotati di corna lunghe.

<b>IZSLER</b> LNR per la Tuberculosis Bovina CRN per la Tuberculosis da <i>M.bovis</i>	<b>PROCEDURA PER L'ESECUZIONE  DELLA PROVA TUBERCOLINICA  NELLA SPECIE BOVINA</b>	Rev. 0 Data pubblicazione: 26/06/2023 Pag. 3 di 4
--	---	--

La tubercolina da utilizzare deve essere stata prodotta conformemente alla norma, mantenuta ad una temperatura compresa tra 2°C e 8°C e protetta dalla luce. Può essere utilizzata fino alla data di scadenza indicata dall'istituto produttore.

L' inoculazione di tubercolina PPD deve avvenire per via intradermica tramite iniettori automatici multi-dose o siringhe graduate sterili con ago corto. L'ago deve essere inserito obliquamente negli strati più profondi della pelle. Il volume per ogni inoculazione deve essere di 0,1 ml (non superiore a 0,2 ml) e la dose non inferiore a 2000 UTC. La corretta inoculazione deve essere confermata palpando un piccolo gonfiore simile ad un pisello in ogni sito di iniezione.

#### 4. Interpretazione

L'interpretazione si basa su osservazioni cliniche e sull'aumento dello spessore della piega cutanea (mm) rilevato nei siti di inoculazione 72 ore ( $\pm$  4 ore) dopo l'iniezione della/e PPD rispetto allo spessore di partenza. Tra una prova tubercolinica e la successiva deve intercorrere un periodo di tempo non inferiore alle sei settimane.

L'interpretazione dell'**intradermotubercolinizzazione singola** (IDTs) deve essere fatta considerando i seguenti criteri:

a) *Reazione negativa*: se si osserva solo un gonfiore limitato, con un aumento non superiore a 2 mm dello spessore della piega cutanea senza segni clinici quali edema diffuso o esteso, essudazione, necrosi, dolore o infiammazione dei dotti linfatici in quella regione o dei linfonodi.

b) *Reazione dubbia*: se non si osservano segni clinici come quelli di cui alla lettera a) e se l'aumento dello spessore della piega cutanea è superiore a 2 mm e inferiore a 4 mm.

Gli animali dubbi devono essere sottoposti ad un altro test dopo almeno 42 giorni. Gli animali che non sono negativi a questa seconda prova sono considerati positivi alla prova.

c) *Reazione positiva*: se si osservano segni clinici come quelli di cui al punto a), oppure se si osserva un aumento di 4 mm o più nello spessore della piega della pelle nel sito di iniezione

Gli animali positivi alla prova intradermica singola possono essere sottoposti a una prova comparativa intradermica se si sospetta una reazione falsa positiva o una reazione di interferenza. Gli animali che non sono negativi a questa seconda prova sono considerati positivi alla prova.

Prova	Interpretazione	Segni Clinici*	Aumento dello spessore cutaneo (mm)
<b>IDT semplice</b>	Negativa	No	$\leq 2$ mm
	Dubbia	No	$> 2$ e $< 4$ mm
	Positiva	Si*	$\geq 4$ mm

\*in presenza di segni clinici (edema diffuso o esteso, essudazione, necrosi, dolore o infiammazione dei dotti linfatici in quella regione o dei linfonodi) la prova è da ritenersi sempre positiva, anche se l'aumento dello spessore cutaneo fosse inferiore a 4 mm.

L'interpretazione dell'**intradermotubercolinizzazione comparativa** (IDTc) deve essere fatta considerando i seguenti criteri:

a) *Reazione negativa*: reazione bovina negativa, o reazione bovina positiva o inconcludente, ma uguale o inferiore a una reazione aviaria positiva o inconcludente e assenza di segni clinici in entrambi i casi.

b) *Reazione dubbia*: reazione bovina positiva o dubbia che è da 1 a 4 mm maggiore della reazione aviaria e assenza di segni clinici.

<b>IZSLER</b> LNR per la Tuberculosis Bovina CRN per la Tuberculosis da <i>M.bovis</i>	<b>PROCEDURA PER L'ESECUZIONE  DELLA PROVA TUBERCOLINICA  NELLA SPECIE BOVINA</b>	Rev. 0 Data pubblicazione: 26/06/2023 Pag. 4 di 4
--	---	--

Gli animali dubbi al test comparativo intradermico sono sottoposti ad un altro test dopo almeno 42 giorni. Gli animali che non sono negativi a questa seconda prova sono considerati positivi alla prova. e) *Reazione positiva*: reazione bovina positiva superiore di oltre 4 mm alla reazione aviaria o presenza di segni clinici.

Prova	Interpretazione	Segni Clinici*	Aumento dello spessore cutaneo (mm)
<b>IDT comparativa</b>	Negativa	No	Reazione bovina negativa, oppure Reazione bovina positiva/dubbia] ≤ [reazione aviaria]
	Dubbia	No	Reazione bovina positiva/dubbia e 1-4 mm > reazione aviaria
	Positiva	Si*	Reazione bovina positiva > reazione aviaria di più di 4 mm

\* in presenza di segni clinici (edema diffuso o esteso, essudazione, necrosi, dolore o infiammazione dei dotti linfatici in quella regione o dei linfonodi) alla PPD bovina la prova è da ritenersi sempre positiva, anche se l'aumento dello spessore cutaneo fosse inferiore a 4 mm.

Animali con esito dubbio alla prova singola della tubercolina, animali che sono stati considerati positivi alla prova singola ma in attesa di una nuova prova comparativa per sospetta positività aspecifica e animali considerati dubbi alla prova comparativa devono essere isolati dagli altri animali dello stabilimento fino a quando la loro situazione non sia stata risolta, mediante un'ulteriore prova dopo almeno 42 giorni o un esame ispettivo post mortem e di laboratorio.

### Riferimenti

SOP/001/EURL rev1. Intradermal Tuberculin Skin Test Protocol in bovine animals (<https://www.visavet.es/bovinetuberculosis/databases/protocols.php>)