

# **SORVEGLIANZA DELLA TUBERCOLOSI BOVINA NEL CINGHIALE, OSSERVAZIONI EPIDEMIOLOGICHE**

## ***BOVINE TUBERCULOSIS SURVEILLANCE IN WILD BOAR, EPIDEMIOLOGICAL ISSUES***

GAVAUDAN S.<sup>1</sup>, CONQUISTA M.<sup>1</sup>, BARCHIESI F.<sup>1</sup>, CANONICO C.<sup>1</sup>, ANGELONI G.<sup>1</sup>, PERUGINI G.<sup>1</sup>, ACONITI MANDOLINI N.<sup>1</sup>, PAPA P.<sup>1</sup>, CROTTI S.<sup>1</sup>, MAZZONE P.<sup>1</sup>, GASPARI M.<sup>2</sup>, BARBONI C.<sup>2</sup>, MORANDI F.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Istituto Zooprofilattico Sperimentale Umbria e Marche "T.Rosati", Perugia; <sup>2</sup> Azienda Sanitaria Unica Regionale, Regione Marche, Ancona; <sup>3</sup> Parco Nazionale dei Sibillini, Visso (MC)

**Parole chiave:** cinghiale, tubercolosi bovina, sorveglianza della fauna selvatica

**Keywords:** wild boar; bovine tuberculosis; wildlife surveillance

### **RIASSUNTO**

Sin dal 1930 è nota la sensibilità del cinghiale alla tubercolosi bovina (BT). In Italia la malattia è stata documentata in Liguria da Dini et al.(1), nelle Marche sono stati documentati casi sin dal 2002 (2). Da allora nel comprensorio appenninico del Monte San Vicino (1450 km<sup>2</sup>; 1480 m.s.l., 1480, provincia di Macerata, Marche, IT) un singolo ceppo di *Mycobacterium bovis* è condiviso tra bovino (Razza Marchigiana) e cinghiale in una interfaccia eco-patologica. Nelle ultime stagioni di caccia il numero dei casi è andato aumentando da 35 casi delle stagioni venatorie dal 2002/2003 al 2015/2016 a 77 casi delle stagioni venatorie 2016/2017 e 2017/2018, per complessivi 112 casi. Le relazioni tra infezione tubercolare e popolazione di cinghiale sono state indagate allo scopo di migliorare il controllo della malattia nei selvatici. La popolazione di cinghiale cacciata intesa come numero di casi sottoposti a visita e prelievo per il controllo della trichinosi (Reg.1375/2015), è stata comparata con il numero di casi con lesioni tubercolari (confermati dall'esame batteriologico) rilevati all'esame ispettivo dal Servizio Veterinario Pubblico. Le attività di sorveglianza passiva della BT nel cinghiale sono descritte al fine di fornire i principali indici epidemiologici della malattia nell'area di studio. Questi dati rappresentano una base fondamentale per la pianificazione di nuove azioni di controllo della tubercolosi e per aumentare le conoscenze epidemiologiche della malattia nel cinghiale. I risultati sono discussi per supportare tesi inerenti al ruolo del cinghiale nell'epidemiologia della tubercolosi, nell'ambiente considerato.

### **ABSTRACT**

Since 1930 the susceptibility of wild boar (WB) to Bovine tuberculosis (BT) infection is known. In Italy, the infection has been documented in Liguria by Serraino et al. (1) and in the Marche Region we reported cases since 2002 (2). So far in the Apennine area of Monte San Vicino (1450 km<sup>2</sup>; 1480 m.s.l., Macerata province, Marche IT) a single strain of *Mycobacterium bovis* has shared between WB and cattle (Marchigiana Breed) in a wildlife-domestic eco-pathological interface. In the last hunting seasons the number of infected cases rose from no. 35 cases of the hunting season 2002/2003 to the season 2015/2016 to the no.77 cases of the seasons 2016/2017 and 2017/2018. The relationship between BT infection and WB population are investigated in order to improve the control of the TB also in wildlife. The hunted WB population, means as no. heads submitted to inspection and sampling for trichinosis detection (Reg. 1375/2015), was compared with the no. of heads with BT lesions (confirmed by bacteriology) detected by the Public Veterinary Inspection Service. The

passive surveillance actions are described for TB in WB and the main epidemiological index are calculated and reported for the studied area. These data represent a fundamental issues in order to plan more and new actions to enhance the control of the disease in the area and to improve the knowledge about the epidemiology of BT in WB. The results are discussed to suppose the role of WB in the epidemiology of the TB in this environment.

## **INTRODUZIONE**

Nel cinghiale l'infezione da *M.bovis* è nota dagli anni '30. In Italia è stata descritta in Liguria negli anni novanta (1) mentre nella Regione Marche, il primo isolamento è avvenuto nel 2002 (2) in un cinghiale proveniente dal comprensorio del Monte San Vicino (1450 km<sup>2</sup>; 1480 m.s.l., Regione Marche). Questa area appenninica è compresa tra i Comuni di Matelica, Gagliole e San Severino Marche della provincia di Macerata e quello di Fabriano per la provincia di Ancona. Da allora 112 cinghiali sono risultati colpiti da uno stesso genotipo di *Mycobacterium bovis* (SB0120, VNTR 33533) condiviso con i bovini coinvolti nei diversi focolai della malattia notificati nella stessa area. Nelle ultime 2 stagioni venatorie il numero dei casi di malattia nel cinghiale è andato crescendo, estendendosi anche a territori limitrofi. Al fine di porre le basi per il controllo attivo nella specie selvatica è stata intensificata la sorveglianza sanitaria e organizzata la raccolta dei dati relativi alla popolazione di riferimento, ovvero quella abbattuta in prelievo venatorio.

Nella Regione Marche, dal 1999 i cinghiali abbattuti sono sottoposti a visita ispettiva (Decreto del Presidente della Giunta Regionale Marche. n. 114/1999), a seguito della quale viene effettuato il prelievo di diaframma per la ricerca di trichinella (Reg.UE 1375/2015). Più recentemente è stato introdotto l'obbligo di conferire l'intera testa (Decreto Giunta Regionale n.344/2017) al fine di ispezionarne i linfonodi (sottomandibolari e retrofaringei) frequente sede di lesioni granulomatose in questa specie. Nel 2013 la Regione Marche, ha identificato l'area a rischio per la tubercolosi (Decreto del Presidente della Giunta Regionale n.156/2013), impartendo regole più severe di sorveglianza negli animali domestici e selvatici.

## **MATERIALI e METODI**

La visita ispettiva del cinghiale nella Regione Marche viene svolta, presso le case di caccia e nei mattatoi, da Veterinari del Servizio Veterinario Pubblico. Ogni capo è identificato univocamente con un numero progressivo apposto come fascetta inamovibile inserita al momento dell'abbattimento, sotto la responsabilità di un caposquadra riconosciuto. La testa e i visceri, così identificati, sono portati alla visita ispettiva accompagnati dal modulo ufficiale di battuta di caccia. In tale modulo sono riportati la data, la squadra di caccia e la zona di battuta nell'Ambito Territoriale di Caccia (ATC), assieme ai principali rilievi biometrici di ogni capo abbattuto (sesso, classe di età, peso, ecc.). La caratterizzazione biometrica è effettuata da personale formato ed autorizzato dall'ATC, dove la rilevazione dell'età viene effettuata attraverso l'esame della tavola dentaria, raggruppando i soggetti secondo classi di età ( $\leq 12$  mesi;  $>12 < 36$ ;  $\geq 36$  mesi). Lo stesso verbale accompagna i campioni di diaframma per la ricerca delle trichine al laboratorio IZS. Tale registrazione permette di risalire per ogni Stagione Venatoria al numero dei capi abbattuti e, attraverso la squadra di caccia (Unità di Gestione), al luogo di abbattimento. Questo è parte di una area più ampia (Distretto di Gestione, DG) e omogenea per il controllo del cinghiale, effettuata dall'ATC provinciale. La condivisione dei dati di gestione con quelli sanitari è l'elemento fondamentale per la stima di prevalenza dell'infezione, dove la popolazione di riferimento è data dal numero di capi sottoposti alla ricerca di trichinella, mentre i capi positivi sono conteggiati a partire dai capi con lesioni sospette, confermate dall'esame colturale. Nei capi sospetti in sede di necroscopia viene effettuato un approfondimento diagnostico relativamente al tipo di

lesione e distretti anatomici interessati. La sede delle lesioni è riferita al distretto linfatico della testa sede di linfadeniti granulomatose (LG), dell'apparato respiratorio e polmone (AR) o alla generalizzazione delle lesioni (GEN) se ad essere coinvolti sono più distretti contemporaneamente. I ceppi isolati sono inviati al Centro di Referenza Nazionale per la Tuberculosis (IZS Lombardia ed Emilia Romagna) per la tipizzazione molecolare (spoligotyping e VNTR), al pari di quanto effettuato per i ceppi derivanti dalla diagnosi nel bovino.

## RISULTATI

Nel cinghiale, a partire dal 2002 fino alla stagione di caccia 2017/2018, sono stati isolati 112 ceppi di *M.bovis*. La tabella 1 riporta sinteticamente la distribuzione dei casi per stagione venatoria. I ceppi isolati hanno evidenziato un identico profilo genetico comune con i bovini dei focolai della zona (VNTR 33533; spoligotype BCGLike 0120). La ripartizione dei capi infetti per sesso, età e tipo di lesioni è riportata rispettivamente nelle figure 1, 2 e 3. La suddivisione in base al sesso per classe di età considerata dei capi infetti è riportata nella figura 4. Nella figura 5 si riporta la distribuzione delle lesioni, secondo sesso e classe di età dei soggetti colpiti, mentre nelle figure 6 e 7 si riporta in maggior dettaglio la distribuzione delle lesioni, rispettivamente secondo sesso ed età dei capi colpiti.

In tabella 2 sono indicati i capi abbattuti complessivamente per AATTCC (indipendentemente dal Distretto di Gestione) dalla stagione venatoria 2012/2013 alla 2016/2017. In tabella 3 è indicata la prevalenza di infezione per Distretto di Gestione degli anni 2016, 2017 e 2018. Relativamente ai distretti colpiti, le lesioni dell'apparato respiratorio, sempre accompagnate da lesioni dei linfonodi della testa (L.retrofaringei e/o L.mandibolari), sono confermate dall'isolamento di *M.bovis*. Al contrario, la presenza di lesioni della testa, non è indicazione certa di pari lesioni dell'apparato respiratorio.

**Tabella 1-** Cinghiali positivi per *M.bovis* per stagione di caccia

*Table 1- Positive wild boar for M.bovis for hunting season*

Stagione venatoria	2002/03	2004/05	2005/06	2010/11	2011/12	2012/13	2013/14	2014/15	2015/16	2016/17	2017/18
n. cinghiali positivi per <i>M.bovis</i>	1	3	7	1	1	2	4	10	6	40	37

**Tabella 2-** Numero di capi abbattuti per ATC (*fonte regione marche, all districts*)

*Table 2- no. hunted heads for ATC (source: regione marche, all districts)*

	2012-2013	2013-2014	2014-2015	2015-2016	2016-2017
ATC AN2	849	781	1216	905	1407
ATC MC1	1267	1174	1593	1187	1609

**Tabella 3-** Prevalenza per distretto di gestione (DG)

*Table 3- Prevalence for management area (DG)*

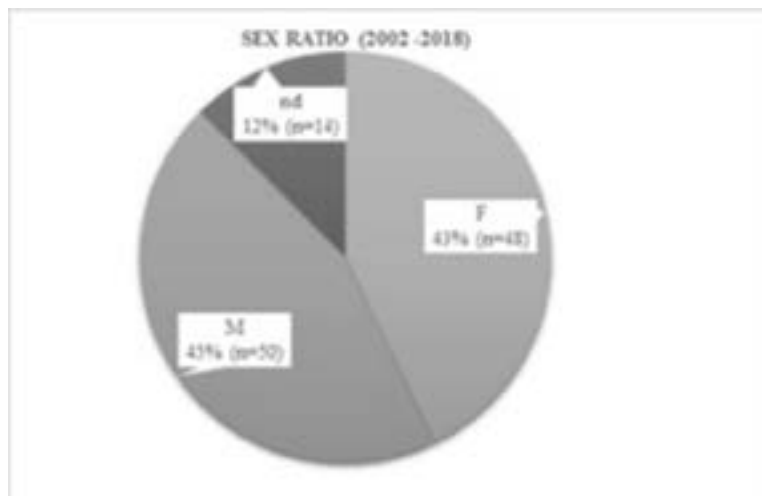
ANNO	ATC	DG	N. CAPI ABBATTUTI/	N.CAPI POSITIVI PER <i>M.bovis</i>	P (%)	IC
2016	MC1	A01	185	0	0,0	/
	MC1	B01	696	28	4,0	2,6-5,5
	AN2	A2	344	9	2,6	0,93-4,3
	AN2	B	341	0	0,0	/
2017	MC1	A01	181	1	0,5	0,5-1,6
	MC1	B01	980	16	1,6	0,8-2,4
	AN2	A2	308	7	2,3	0,6-4
	AN2	B	294	2	0,7	0,2-1,6
2018	MC1	A01	219	0*	0,0	/
	MC1	B01	1156	12*	1,0	0,4-1,6
	AN2	A2	264	6*	2,3	0,5-4
	AN2	B	354	0*	0,0	/

*\*dato relativo agli isolamenti disponibili dei primi mesi dell'anno 2018 (Stagione Venatoria 2017/2018)*

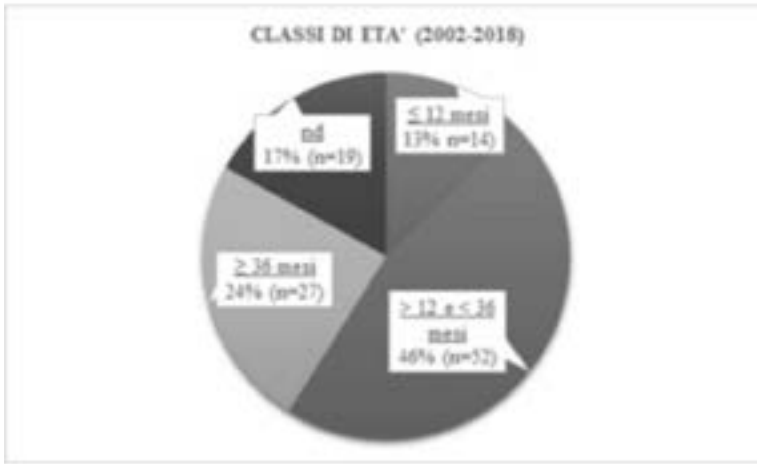
*\*Isolates available for the early months of the year 2018 (Hunting Season 2017/2018)*

**Figura - 1:** Sex ratio dei cinghiali positivi (2002-2018)

*Image - 1: Sex ratio of positive wild boars (2002-2018)*



**Grafico 2** - Classi di età dei cinghiali positivi (2002-2018)  
*Image 2- Age groups of positive wild boars (2002-2018)*

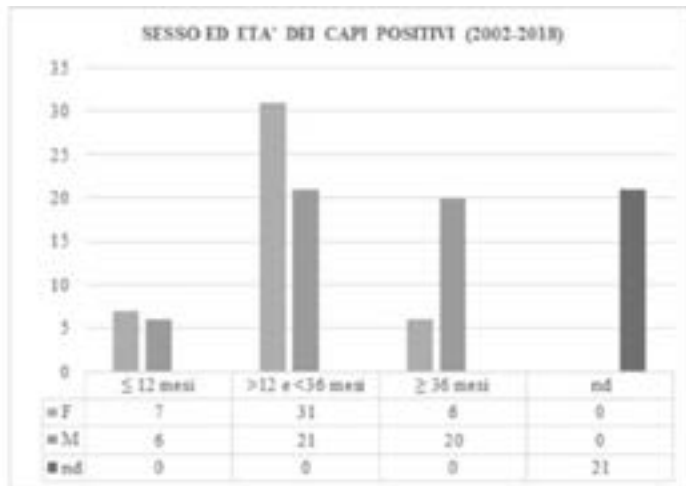


**Figura 3** - Distribuzione delle lesioni per distretto anatomico (2002-2018)  
*Image 3 – Observed lesions by anatomic district (2002-2018)*

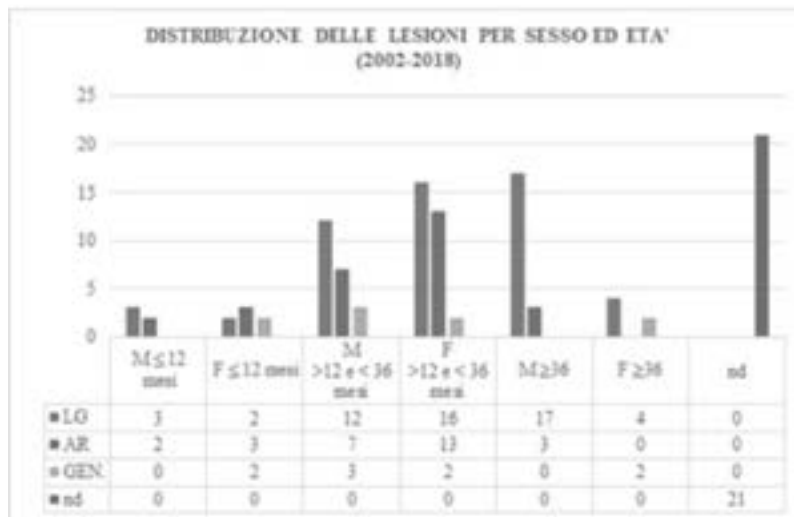


LG: Linfadenite granulomatosa della testa (head linofadenitis)  
 AR: lesioni dell'apparato respiratorio (respiratory tract lesions)  
 GEN: lesioni generalizzate (generalized lesions)  
 nd: non registrate (not detected)

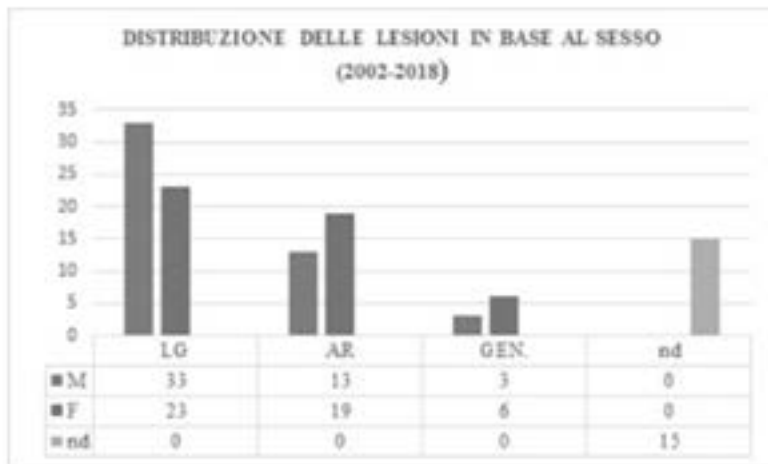
**Figura 4- Capi positivi distribuzione per sesso ed età (2002-2018)**  
*Image 4- Positive wild boar by sex and age (2002-2018)*



**Figura 5 - Distribuzione delle lesioni per sesso ed età (2002-2018)**  
*Image 5 - Observed lesions by sex and age (2002-2018)*



**Figura 6** - Distribuzione delle lesioni per sesso (2002-2018)  
*Image 6 - Observed lesions by sex (2002-2018)*



**Figura 7** - Distribuzione delle lesioni per età (2002-2018)  
*Image 7- Observed lesions by age (2002-2018)*



## DISCUSSIONE

I risultati ottenuti permettono di valutare la prevalenza per area di caccia (Distretto di Gestione, DG). Tale dato risulta necessario per misurare l'andamento dell'infezione nel tempo e nello spazio. L'organizzazione della raccolta dei dati da noi seguita, permette di effettuare alcune riflessioni in merito alle categorie di sesso ed età dei soggetti colpiti. Se pur tali osservazioni sono preliminari, è da notare che l'infezione tubercolare riconosce una prima sede di lesione nei linfonodi della testa (soprattutto i linfonodi retro faringei e in misura secondaria i linfonodi sottomandibolari), seguita in alcuni casi dall'interessamento dei linfonodi bronchiali e del polmone. Le lesioni bronco-polmonari sono particolarmente rappresentate nelle classi di età centrali (>12<36 mesi), per declinare nella classe di età maggior o uguale ai 36 mesi. Le stesse lesioni broncopolmonari sono maggiormente rappresentate nelle femmine che nei maschi

(dove sono più frequenti le lesioni dei linfonodi della testa. Questa distribuzione, alla luce dell'andamento prevalentemente cronico della patologia, ma anche del comportamento sociale della specie (che vede la presenza di gruppi matriarcali con relativa prole, da cui i maschi si separano per condurre una vita solitaria), permette di supportare alcune ipotesi.

Il comportamento sociale può influire nella trasmissione della malattia, favorita dal contatto diretto e prolungato tra soggetti infetti e sani, supportando le diverse vie d'ingresso: la trasmissione per via alimentare (da latte materno, grufolamento, necrofagia), potrebbe essere affiancata nelle femmine per una maggior esposizione alla via respiratoria per il loro comportamento gregario. La riduzione delle lesioni polmonari rilevate nella classe di età più alta, suggerirebbe al contrario una minor sopravvivenza oltre i tre anni dei soggetti con forme respiratorie, a differenza dei soggetti con linfadenite della testa, che sopravviverebbero più a lungo.

Non è possibile invece effettuare considerazioni relative alla presenza di lesioni dell'apparato digerente in quanto non osservato in sede ispettiva, né del tipo di lesioni presenti in animali giovanissimi, in quanto questa casistica sfugge completamente al prelievo venatorio.

## CONCLUSIONI

L'attività descritta rappresenta schematicamente il sistema di sorveglianza della tubercolosi sviluppato nella Regione Marche e i risultati ottenuti nei diversi anni di studio della problematica. La registrazione dei campioni di cinghiale in laboratorio, recepisce l'anagrafica utilizzata per il prelievo venatorio, producendo dati comuni per la popolazione di cinghiale.

Queste informazioni, associate all'evidenza della circolazione di uno stesso genotipo circolante nel bovino, permettono di effettuare prime ipotesi sulla dinamica dell'infezione di *M.bovis* nel cinghiale e il ruolo della specie nel mantenimento dell'infezione. La misurazione dell'andamento dell'infezione nel tempo e nello spazio è infatti, a nostro avviso, necessaria e preliminare all'introduzione di interventi di riduzione della malattia in questa specie.

La valutazione delle osservazioni effettuate ci permette, in assenza di dati sperimentali, di asserire che l'infezione intra-specifica possa avvenire oltre che per via digerente anche attraverso quella respiratoria, in accordo al comportamento sociale del cinghiale. Per quanto detto è plausibile la trasmissione della patologia dal bovino al cinghiale attraverso la necrofagia su bovini infetti morti al pascolo. Meno chiaro è, a nostro avviso, la possibilità di ritorno dell'infezione dal cinghiale al bovino, stante tuttavia la possibile contaminazione dei pascoli con secreti ed escreti, ma la cui capacità infettante è da dimostrarsi. Senza dubbio è presente un ciclo selvatico dell'infezione, la cui dinamica è stata ipotizzata. Meno chiari sono a nostro avviso i motivi della recrudescenza attuale della malattia, in assenza di sostanziali variazioni della pressione venatoria. Per quanto riguarda invece la diffusione a nuove aree, sembra documentato l'effetto disgregante della battuta di caccia nei gruppi sociali (3). Questi gruppi inoltre, secondo quanto documentato dagli AATTCC, avrebbero aumentato il numero di femmine presenti, in risposta all'aumentata predazione esercitata dal lupo. Tale evidenza potrebbe ulteriormente aumentare i contatti intraspecifici in ambito familiare.

## BIBLIOGRAFIA

1. Dini V., Ferroglio E., Serraino A., Mignone W., Sanguinetti V., Bollo E., Rossi L. (2003) - Epidemiologia delle micobatteriosi nel cinghiale in Liguria. *J. Mt. Ecol.*, 7 (Suppl.): 145 -153.
2. Gavaudan S., Bartolini C., De Curtis M., Cagiola M., Duranti A. (2006) – La tubercolosi nell'ecosistema della fauna selvatica e domestica nella regione Marche. *Osservatorio Epidemiologico Veterinario Regione Lombardia*, 9: 10-13
3. Chenais, E., Ståhl, K., Guberti, V., & Depner, K. (2018). Identification of Wild Boar–Habitat Epidemiologic Cycle in African Swine Fever Epizootic. *Emerging Infectious Diseases*, 24(4), 810-812.