Mic B70/42. 4E

PIETRO STAZZI

BIBLIOTECA MEDICA STATALE ROMA

I risultati di un ventennio di profilassi vaccinale (premunizione) contro la brucellosi bovina in Lombardia

ESTRATTO DA "MEDICINA E BIOLOGIA" - VOL. I

Esemplare fuori commercio per la distribuzione agli effetti di legge.

PIETRO STAZZI

I risultati di un ventennio di profilassi vaccinale (premunizione) contro la brucellosi bovina in Lombardia

ESTRATTO DA "MEDICINA E BIOLOGIA" - VOL. I

ROMA - TIP. DEL SENATO DEL DOTT. G. BARDI

STAZIONE SPERIMENTALE DI MILANO PER LE MALATTIE INFETTIVE DEL BESTIAME

DIRETTORE PROF. P. STAZZI

DOTT. PIETRO STAZZI

I RISULTATI DI UN VENTENNIO DI PROFILASSI VACCINALE (PREMUNIZIONE) CONTRO LA BRUCELLOSI BOVINA IN LOMBARDIA

NELLE grosse stalle della Lombardia, specie nella zona irrigua, dominano due malattie a carattere cronico: la brucellosi bovina o aborto epizootico e la tubercolosi. Molto più interessa l'agricoltore la prima, perchè incide più gravemente sulla produzione del latte e sull'allevime di rimonta.

L'aborto da bacillo di Bang avviene d'ordinario fra il quarto ed il sesto mese di gravidanza: sono eccezionali i casi al terzo ed all'ottavo mese. L'aborto che si verifica prima di tre mesi non è da brucella abortus; più spesso è successivo ad una infezione da *Tricomonade Mazzanti*. Poichè l'aborto da Bang si verifichi occorre che il bacillo o coll'alimento o attraverso ferite ecc. arrivi all'epitelio di rivestimento dei villi embrionali del corion, ove promuove un processo infiammatorio e degenerativo che determina un largo distacco dei villi stessi dal tessuto placentale materno; e perchè tutto questo avvenga occorrono almeno tre o quattro mesi. Nel maggior numero dei casi l'infezione non ha altro seguito che quello dell'espulsionedel feto e delle sue membrane; ma non di rado per una limitata espulsione di questa si ha lo stabilirsi di un processo infiammatorio, a carattere suppurativo o necrotizzante della mucosa uterina, che può condurre a fatti setticemici mortali, a metastasi articolari, o a sterilità transitoria o permamente.

Non di rado nelle stalle dove domina la brucellosi si hanno fatti di morbilità e mortalità neonatale, sia perchè i vitelli che giungono a termine sono molto deboli, sia perchè durante la vita intrauterina avviene la penetrazione del bacillo di Bang nello stomaco e nell'intestino del feto, ed i vitelli che nascono a termine hanno una gastro enterite congenita.

Noi non consideriamo per l'aborto bovino da bacillo di Bang che i danni economici, poichè quelli sanitari imputabili alla brucella abortus, sono, almeno per la pratica nostra, piuttosto problematici. Anche in Lombardia si sono verificati casi di febbre ondulante avvenuta per mezzo del latte e latticini, di origine bovina o per contatto diretto con parti largamente contagiate (veterinari colpiti da febbre ondulante per estrazione della placenta), ma questi casi risultàrono in rapporto a brucella brucei che può nelle bovine produrre, come la brucella di Bang, l'aborto. Non è certamente possibile distinguere un aborto da Br. abortus da un aborto da Br. melitense; se pure non si accetta il fatto epidemiologico che noi abbiamo osservato come costante nel territorio di pertinenza della Stazione Sperimentale di Milano; e cioè, che l'aborto da melitense a differenza dal banghiano predilige le piccole stalle della zona asciutta ove domina l'agricoltura a colonia e dove è più facile una promiscuità al pascolo, alla abbeverata, alla stalla del bovino con l'ovino. Nelle stalle indenni l'infezione arriva con femmine infette che abortiscono dopo poco e diffondono largamente il materiale contagiante, più di rado con il toro, più spesso per opera di bovine che pur essendo apparentemente sane forniscono latte contenente bacilli. In ogni modo l'infezione dopo un periodo più o meno lungo colpisce buon numero di animali a preferenza le primipare e quelle del secondo parto. Il decorso dell'infezione nei grossi allevamenti è caratterizzato da alternanze periodiche, perchè dopo che un'alta percentuale, che va fino e più del terzo degli effettivi, ha abortito si osserva un periodo di calma che dura d'ordinario tre anni. A questo succede un risveglio dell'infezione, che incomincia a colpire le primipare e poi si diffonde alle altre e può presentarsi anche in alcuni soggetti fra i più giovani che hanno resistito alla prima ondata enzootica.

Vi sarebbero nell'evoluzione dell'aborto due momenti nei quali si potrebbe intervenire utilmente con una profilassi diretta per sele-

zione all'inizio, quando l'infezione ha ancora carattere sporadico e nel periodo postenzootico o di assopimento.

Nel primo periodo s'imporrebbe l'allontanamento ed il sacrificio al macello delle bovine che abortiscono o che si mostrano infette all'esame sierologico o allergico.

Nel secondo periodo, quando vi è uno stato di calma o di silenzio della infezione si dovrebbe separare gli animali risultati infetti allo esame sierologico dai sani, raccogliendoli in stalle del tutto isolate. Non è sempre facile convincere l'agricoltore dell'opportunità del tempestivo sacrificio all'inizio del contagio; è impossibile ottenere dallo stesso il provvedimento di separazione nel periodo di assopimento dell'infezione, e questo per difficoltà di personale e per povertà di ricoveri. L'agricoltore vuole anche per l'aborto la difesa vaccinale, che in zootecnia è la più semplice ed in ultimo la più economica.

Ecco perchè fino dal 1912 abbiamo cercato di attenuare i danni di questa malattia con interventi vaccinali diversi (« Clinica Veterinaria », 1912, pag. 1562; « Clinica Veterinaria », 1915, pag. 466). Abbiamo dapprima cercato di risolvere il problema della vaccinazione con preparati di germi variamente uccisi, a preferenza coll'acido fenico al 5 per mille. I risultati furono incostanti ed anche col metodo delle iniezioni endovenose, da noi applicato nel 1915 (vedi « Clinica Veterinaria », pag. 481) i risultati non furono migliori, mentre non mancarono reazioni vaccinali che hanno, non di rado, impressionato sfavorevolmente l'agricoltore. Ci siamo allora indirizzati al vaccino con germi vivi.

Le basi scientifiche dell'uso del vaccino vivo riposano sulla osservazione, più volte ripetuta, secondo la quale i bovini colpiti dall'infezione presentano uno stato d'immunità permanente, *stato di premunizione* che può durare alcuni anni dall'inizio dell'infezione. Ora come dice giustamente il Nai (vedi « Clinica Veterinaria », 1937, pag. 450 e seg.) la vaccinazione con culture viventi ha lo scopo di accelerare artificialmente questo stato di premunizione per cui si giunge alla *guarigione clinica* (arresto dell'aborto) e non di rado alla *guarigione assoluta*, con scomparsa cioè delle brucelle dall'organismo.

In un primo tempo ci siamo chiesti se si doveva ricorrere a germi virulenti, o invece a germi attenuati; in un secondo tempo, quando

abbiamo appreso come anche nelle bovine si potevano avere casi di aborto da Br. melitense ci siamo assicurati che i germi vaccinanti fossero di sicura origine banghiana, per non correre il pericolo di diffondere la febbre ondulante, come è avvenuto alcuni anni or sono in Francia.

Le culture di bacilli di Bang originariamente rivelano gradi di virulenza diversa sia pei bovini come per gli animali di esperimento (cavia e topo bianco). Vi sono ceppi di Bang a virulenza così notevole che nelle cavie determinano gravi lesioni (focolai ascessuali multipli al fegato, al rene e alla milza che è notevolmente iperplastica), dimagramento e morte, e, nelle vacche, localizzazione nelle mammelle e nei gangli linfatici corrispondenti, ed anche all'utero, sicchè gli animali restano durevolmente infetti o diffusori di contagio. Vi sono invece dei ceppi di Bang di debole virulenza, che non producono che lesioni limitatissime, spesso macroscopicamente nulle nelle cavie e che anche ad altissime dosi per iniezione sottocutanea, non determinano nelle bovine nè aborto nè localizzazione alle mammelle. Fin dall'inizio della nostra pratica vaccinale abbiamo senz'altro preferito attenerci ai ceppi originariamente poco virulenti, nella convinzione, allora solo induttiva, che dessero un minor numero di soggetti durevoli portatori ed eliminatori di *brucella bovis*. Più tardi colla collaborazione del dott. Santagostino (vedi « Clinica Veterinaria », 1937, pag. 146), valendoci delle numerose bovine che servivano per la preparazione del siero iperimmune e che sostavano nelle stalle alcuni mesi, si è potuto sperimentalmente assodare che i ceppi inizialmente poco virulenti nelle cavie, portati nelle bovine, mentre promuovono in 10 o 12 giorni formazioni di agglutinine ad alto titolo, non dànno luogo ad alcuna localizzazione nè alla mammella nè ai gangli linfatici sopramammari.

Una attenuazione nei riguardi del comportamento delle cavie come nelle bovine si può, secondo Ascoli (Cornell, « Clinica Veterinaria », 1940, pag. 192) e Demnitz (« Tierarztliche Rundschau », 1941, n. 40 e 1942, n. 1 e 2), ottenere con colture in terreni biliati analoghe a quelle usate per il ceppo Calmette e Guerin della tubercolosi. Noi abbiamo finora preferito continuare nell'uso di ceppi già *originariamente* poco virulenti, ed anzichè ricorrere ad un solo

ceppo abbiamo preferito usare vaccini polivalenti, cioè preparati con ceppi diversi a *modesta attività patogena e ad alta attività agglutinogena*.

Per assicurarci che i ceppi vaccinali siano sicuramente quelli della br. abortus e non melitense, seguiamo questa metodica riportata dal dott. Santagostino nella « Clinica Veterinaria », 1937 a pagina 143 e seg. I ceppi per il vaccino vivo devono provenire per coltura diretta dai visceri di feti abortiti da mucche che vivono in località immuni da febbre ondulante. Gli animali della località scelta per ottenere un ceppo vaccinale non devono avere avuto contatto con delle pecore o delle capre, per la responsabilità che queste specie animali hanno nella diffusione della febbre ondulante ed anche per ovviare al pericolo di coltivare da un feto bovino un ceppo di Bang inquinato da melitense.

Si farà grande attenzione al primo sviluppo della coltura in quanto che la Br. di Bang inizialmente cresce solo se la tensione dell'ossigeno atmosferico nella provetta è ridotto, oppure se l'aria è stata sostituita per il 10 % con dell'anidride carbonica. La Br. di Bang non si sviluppa nelle provette comuni tenute per controllo, nelle quali lo scambio gassoso con l'atmosfera è libero. Una volta che il ceppo dopo tre o quattro trapianti si è abituato a crescere all'aria libera è sottoposto alla prova della produzione di H_2S sia con la cartina imbevuta all'acetato neutro di piombo, sia colla coltura in agar in alto strato con acetato di piombo.

Tutti i ceppi di Bang che da anni ci servono per la vaccinazione non hanno perduta o diminuita la loro attività di produzione di H_2S rispetto agli aminoacidi solforati.

Contemporaneamente a questa prova i ceppi vaccinali vengono sottoposti anche all'esame della batteriostasi con tionina, e infine più recentemente si è aggiunta la prova della De Sanctis, dell'azione inibitrice del terreno di Petragnani sullo sviluppo del bacillo di Bang. Il terreno di Petragnani inibisce difatti lo sviluppo di tutti i nostri ceppi vaccinali.

Il nostro vaccino vivo quando viene inoculato nel sottocute della cavia a dose anche di 2 cc. non determina che una modesta iperplasia splenica: questa sua minore aggressività non influisce sulla produzione delle agglutinine, le quali raggiungono il titolo 1:100 – 1:250.

Per la vaccinazione i bacilli di Bang coltivati in agar sono emulsionati in un mestruo d'acqua peptonizzata e gelatina vegetale, mestruo che conserva a lungo la vitalità del germe e concorre a promuovere nel punto di innesto un *flagoma* nel quale il bacillo di Bang si trova, come *sepolto vivo*. La diffusione nell'organismo si compie lentamente, o, mentre per 6–7 mesi i vaccinati hanno una agglutinazione nettamente positiva, non sono affatto eliminatori di germi.

Il metodo di vaccinazione della Stazione Sperimentale di Milano consiste nel praticare in bovine non gestanti in corrispondenza della plica caudale una inoculazione sottocutanea di 5 o 7 cm^3 della emulsione molto densa, nettamente opalescente: l'inoculazione va ripetuta dopo 10 giorni e deve essere eseguita due o tre settimane prima della fecondazione.

Con la precisa applicazione di questo metodo già a partire dal secondo anno dell'intervento il numero degli aborti scende dal 30 o 40 %, al 4 o 5 %. Esso diminuisce nel 3° anno poi scende a zero negli anni seguenti; nè più si presenta se l'agricoltore ha cura di vaccinare le bovine di rimonta di nuovo acquisto che sono poste nella stalla vaccinata. Così risulta da una inchiesta praticata nel 1937 da un mio collaboratore il prof. Dino Nai, nelle provincie di Milano, Pavia e Cremona sopra oltre 100.000 vaccinazioni. La vaccinazione con germi vivi è stata da alcuni aspramente criticata. Il metodo non è certamente perfetto, ma è indiscutibile che, allo stato attuale delle nostre conoscenze, non si è ancora trovato un mezzo più economico, più pratico e più sicuro di protezione dall'aborto enzootico. Ne è una conferma del resto quello che è avvenuto in America e che sta avvenendo in Germania. Nell'America del Nord non ostante una spiccata tendenza all'impiego di mezzi profilattici diretti o di selezione (piano di lotta della Pennsilvania) che dovevano portare alla formazione dei così detti « Gruppi accreditati », cioè di allevamenti esenti dall'infezione per sistematico controllo ufficiale dei tecnici dello Stato, lo stesso « Bureau of Animal Industry » continua le ricerche intorno ad altri mezzi di profilassi indiretta ed esperimenta largamente e con un buon risultato un vaccino avirulento « Ceppo 19 » di Cotton e Bruck. In Germania (« Tierärztliche Rundschau », 1942, n. 1–2)

mentre con ordinanza del 7 febbraio 1936 del Ministero dell'Interno era stato proibito l'uso delle culture vive nella lotta contro l'aborto dei bovini, coll'ordinanza del 13 gennaio 1942 è permesso che nelle stalle fortemente colpite dall'aborto si pratichi l'inoculazione anche di germi vivi, per ridurre i casi di malattia e permettere il successivo risanamento degli effettivi colle misure igienico-profilattiche. E mentre prima nel 1936 si preferivano in Germania i ceppi virulenti, con l'ordinanza Ministeriale del 17 giugno 1941 « è permesso nella pratica per tutto il territorio del Reich » l'applicazione di un vaccino avirulento, così detto nuovo vaccino o vaccino biliato di Demnitz (Behring Werken) la cui innocuità è stata dimostrata anche per bovine gravide. Questo vaccino può essere usato tanto nelle stalle molto infette, quanto in quelle in cui l'infezione ha fatto da poco la prima comparsa.

Al metodo della vaccinazione con germi vivi vengono sostanzialmente mosse due accuse; la prima, riflettente l'igiene animale, secondo la quale la vaccinazione assicurerebbe la permanenza dell'infezione nei nostri allevamenti, aumentandone anzi la diffusione, a cagione della ripetizione an nuale della pratica vaccinale; la seconda riflettente l'igiene umana, secondo la quale verrebbe aumentato il numero degli eliminatori di brucelle attraverso il latte, donde il maggior rischio per l'uomo. Devesi dire subito che nessuna delle due accuse è giustificata.

Giova non dimenticare che la vaccinazione non viene praticata che nelle stalle dove l'infezione è già in atto, e i provvedimenti di polizia sanitaria risulterebbero troppo onerosi. D'altra parte la vaccinazione con ceppi attenuati di per sè non aumenta il numero dei durevoli portatori ed eliminatori di bacilli, poichè se si ha cura di esaminare, come è stato fatto dal prof. Nai a infezione clinicamente scomparsa, lo stato sanitario dei bovini presenti in una stalla dove si è praticata la vaccinazione, si nota come la percentuale di bovini con agglutinazione positiva o con presenza di brucelle nel latte non è maggiore di quella che si riscontra in una stalla nella quale la vaccinazione non è stata applicata. La vaccinazione abbrevia notevolmente il decorso dell'infezione nell'allevamento, provocando contemporaneamente in tutti gli animali lo stabilirsi di quello stato di premunizione che li porterà entro lo

stesso limite di tempo al riparo di ulteriori aborti, esclude la possibilità di una successiva espansione enzootica e diminuisce quindi la diffusibilità del contagio che è legata specialmente agli aborti in atto. Per quanto riguarda l'aumento del pericolo, in seguito alla vaccinazione, di trasmissione dell'infezione brucellare dagli animali agli uomini osserviamo che il vaccino con germi attenuati non aumenta affatto il numero di durevoli diffusori per il latte di B. abortus. D'altra parte il pericolo della brucellosi nell'uomo non è legata alla quantità di animali infetti, quanto alla qualità del germe che sostiene l'infezione. A tal proposito noi non possiamo esimerci dal far presente, che dal giorno in cui la Stazione Zooprofilattica di Milano ha iniziato la lotta contro l'aborto epizootico con il vaccino vivo, in Lombardia furono distribuiti non meno di 200.000 fiale di vaccino, senza che nelle località dove è stata praticata la vaccinazione, e trattasi di migliaia di cascinali, si sia potuto verificare nell'uomo alcun fatto patologico riportabile alla melitococcia. Durante le operazioni di vaccinazione non sono mancati gli episodi di ferite che i veterinari si sono fatti per l'apertura delle fiale di vaccino oppure per l'ago della siringa, e tutto ciò senza alcun conseguenza. Se a questo aggiungiamo che il siero di sangue del personale addetto alla preparazione ed infialettamento del vaccino non agglutina affatto la Brucella abortus, dobbiamo affermare che il B. abortus della Lombardia non è patogena per l'uomo o per essere più precisi non lo sono di certo i ceppi che noi usiamo per la vaccinazione dei bovini.

Ma un'altra critica si è fatta alla vaccinazione con colture vive: ed è che nelle stalle vaccinate si hanno vitelli deboli predisposti alle infezioni setticemiche neonatali, e che nelle bovine trattate sono frequenti i casi di sterilità.

Da noi le cose hanno carattere molto diverso, tanto che un distinto veterinario provinciale il prof. Ettore Gentili in una sua memoria *Nuove vedute sulla eziologia, profilassi e cura della sterilità* (« Clinica Veterinaria », 1933, pag. 414), ha potuto osservare:

a) la cessazione della sterilità in allevamenti ove, dominava parallelamente all'aborto, semplicemente coll'aver sottoposto alla vaccinazione, con germi vivi, tutti gli animali della Azienda (dott. Aguzzi, Bareggi);

b) la non comparsa della sterilità nelle bovine che, avendo abortito una volta sono state sistematicamente sottoposte al predetto presidio immunitario;

c) la constatata resistenza alle infezioni neonatali dei vitelli nati da bovine vaccinate contro l'aborto.

RIASSUNTO

Nelle stalle della Piana Lombarda, ove domina in forma enzootica l'aborto da Br. di Bang, quando non è possibile coi procedimenti diretti dalla polizia veterinaria fronteggiare vittoriosamente l'infezione, trova utile applicazione la vaccinazione con colture vive di ceppi originariamente poco virulenti. Questa pratica vaccinale, che arresta in poco tempo l'infezione non aumenta il numero di soggetti eliminatori di brucelle, perchè il ceppo attenuato non ha tendenza a localizzarsi nella mammella, e non rappresenta alcun pericolo per l'uomo, sia perchè i ceppi usati sono sicuramente delle Brucelle abortus, sia perchè il largo esperimento ha dimostrato la completa innocuità dei ceppi vaccinali.

97862

Esemplare fuori commercio per la distribuzione agli effetti di legge.

346720