

# Diagnostica delle patologie respiratorie del bovino (BRD)

> LINEE GUIDA  
LG *in* VET8



# Diagnostica delle patologie respiratorie del bovino (BRD)

## > LINEE GUIDA LG *in* VET8

Antonio Barberio\* , Eliana Schiavon\*



**LGinVET - Collana a cura di**

ANTONIO BARBERIO, ELIANA SCHIAVON  
EXPERTISE CENTER NEL SETTORE BOVINO  
SCT3 PADOVA E ADRIA - DIAGNOSTICA IN SANITÀ ANIMALE

**Testo redatto da**

ANTONIO BARBERIO, ELIANA SCHIAVON  
SCT3 Padova e Adria - Diagnostica in sanità animale

**Layout e impaginazione**

SCS0 Formazione, comunicazione e servizi di supporto  
Laboratorio comunicazione  
Responsabile Licia Ravarotto

**Foto**

ARCHIVIO IZSVE  
SHUTTERSTOCK

Nonostante l'attenzione dedicata alla stesura della pubblicazione e i controlli effettuati sulle immagini e sui contenuti, qualche errore potrebbe essere sfuggito alle nostre verifiche. Ce ne scusiamo con i lettori e li invitiamo a trasmetterci eventuali osservazioni.

1ª edizione: dicembre 2021

Copyright © 2021 by Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie

Riproduzione vietata ai sensi di legge (art. 171 della legge 22 aprile 1941, n° 633)

Pubblicazione non in vendita

I lettori che desiderano informazioni e aggiornamenti sulle attività dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie possono visitare il sito web [www.izsvenezie.it](http://www.izsvenezie.it), scrivere a [comunicazione@izsvenezie.it](mailto:comunicazione@izsvenezie.it) o seguire la pagina Facebook: [www.facebook.com/izsvenezie](https://www.facebook.com/izsvenezie)

## PRESENTAZIONE

La malattia respiratoria del bovino (BRD) rappresenta la principale patologia dell'allevamento del bovino da carne in tutto il mondo ed ha un notevole impatto sulla redditività dell'allevamento, per i costi diretti conseguenti alla perdita di produzione e per quelli indiretti dovuti a vaccinazioni, cure veterinarie e tempo di lavoro del personale per accudire gli animali ammalati. La BRD infatti è causa di mortalità, di vendite sotto-costo di soggetti cronici, di riduzione delle performance di crescita ed è la prima causa di trattamento antibiotico nel bovino da carne.

Anche nell'allevamento del bovino da latte la BRD rappresenta una patologia importante, seppur meno impattante dal punto di vista economico rispetto alla mastite o alle patologie riproduttive. Essa infatti colpisce soprattutto gli animali giovani riducendo la rimonta disponibile per l'allevamento, generando di conseguenza un effetto negativo immediato di tipo economico ed uno di medio periodo sulla sostenibilità ambientale dell'azienda, causato dalla necessità d'incrementare il numero delle manze allevate, aumentando il "carbon footprint" dell'azienda, elemento considerato oggi di primaria importanza per la politica agricola dell'Unione europea. E' infatti all'impiego di metodologie di allevamento sostenibili in termini di emissioni e consumo di acqua e materie prime che sono collegate le politiche di supporto economico alla produzione agricola promosse dalla UE.

La BRD è una patologia multifattoriale nella quale sono implicati virus, batteri e micoplasmi, ma al cui determinismo contribuiscono una serie di fattori di rischio di tipo ambientale, individuale e manageriale. A causa di questa complessa interazione di fattori differenti è impossibile eradicare questa sindrome dall'allevamento bovino, ma l'applicazione di metodologie di controllo basate sull'analisi e la gestione del rischio può contenere la prevalenza dei casi di malattia, minimizzando le perdite economiche e l'impiego di antibiotici. Uno degli elementi critici per una corretta gestione del rischio di BRD è la conoscenza degli agenti patogeni coinvolti nel determinismo della malattia e l'impiego di un approccio diagnostico moderno, basato su una valutazione olistica dei fattori coinvolti.

L'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie (IZSve) ha svolto da sempre un ruolo di supporto per i veterinari liberi professionisti e gli operatori del settore bovino nel campo della BRD, mediante la ricerca, la messa a punto di sistemi diagnostici efficaci, ed anche lo sviluppo di vaccini, in un periodo storico in cui i presidi immunizzanti per gli animali non erano facilmente reperibili sul mercato. In questo ambito va sicuramente ricordata l'opera svolta dal prof. Francesco Carlotto, che ha fortemente contribuito allo sviluppo delle conoscenze e delle competenze dell'IZSve in questo campo.

## ENTI PROMOTORI

Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie

## REFEREE

Prof. Michele Drigo  
Dipartimento di Medicina Animale, Produzioni

Dr. Giorgio Valla  
Senior Marketing & Technical Manager Ruminants  
CEVA Sante Animale

Si ringraziano il prof. Marco Martini e il dr. Giorgio Valla per il tempo e l'impegno profusi nel lavoro di revisione delle presenti Linee guida

Oggi come ieri l'attività diagnostica nel settore della patologia respiratoria coinvolge quotidianamente l'IZSVE, in considerazione dello sviluppo che ha avuto l'allevamento bovino nel territorio del Triveneto, in particolare nel settore del bovino da carne. Si è ritenuto quindi importante trasferire ai veterinari pubblici e liberi-professionisti le nuove conoscenze emerse in questi ultimi anni al fine di migliorare le capacità diagnostiche ed operative di tutti i colleghi che seguono, con diverse funzioni, gli allevamenti bovini.

La presente linea guida illustra in modo sintetico lo stato dell'arte delle attuali conoscenze sulla BRD e contiene una serie di raccomandazioni e consigli operativi pratici derivanti dall'analisi delle evidenze scientifiche pubblicate su riviste internazionali. L'obiettivo finale è fornire ai colleghi veterinari una serie d'informazioni che possano essere d'aiuto nel processo diagnostico e nella gestione dei casi di BRD riscontrati durante la loro attività lavorativa.

*Elia Schiavon, DVM*  
*Antonio Barberio, DVM, PhD*  
*Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie*

## INDICE

Introduzione	9
Guida ai livelli di prova e alla forza delle raccomandazioni	12
<b>Capitoli</b>	
1. Agenti eziologici della BRD	14
Agenti batterici della BRD	16
Agenti virali	20
2. Patogenesi e aspetti clinici	28
Sintomi clinici della BRD	
Stadi della BRD	
3. Anatomia patologica	34
Epidemiologia della patologia respiratoria	
4. Diagnosi in allevamento	42
5. Diagnosi di laboratorio	52
6. Controllo della malattia in allevamento	58
7. Vaccinazione	62
Raccomandazioni	70
Bibliografia	72



## Introduzione

La patologia respiratoria chiamata anche BRD (bovine respiratory disease) risulta essere una delle patologie più gravi nel settore zootecnico del bovino da carne e della vacca da latte ed è causa di mortalità e di vendite sottocosto di soggetti cronici, inoltre abbassa le performance di crescita ed è responsabile della gran parte dei costi in medicinali, sia in prevenzione che in terapia. Per malattia respiratoria del bovino si intende una forma respiratoria patologica tipica del bovino. Questa specie infatti, è più predisposta di altre a sviluppare forme patologiche respiratorie a causa di alcune particolarità anatomiche e fisiologiche tra le quali la ridotta dimensione polmonare rispetto alla massa corporea, che si traduce in un'attività respiratoria basale più alta, con conseguente maggior probabilità di inalare agenti infettivi e allergenici. Inoltre, un minor numero di macrofagi alveolari ed un' inferiore attività del lisozima, rendono i meccanismi di clearance polmonare del bovino meno efficaci che in altre specie (Radostits et al. 2007).

A causare la patologia respiratoria oltre agli agenti eziologici causa di malattia, abbiamo una serie di fattori di rischio legati all'ambiente di allevamento e alle caratteristiche intrinseche dell'animale stesso. Tutti questi fattori di rischio giocano un ruolo importante nell'insorgenza e gravità della BRD (Lekeux e Coghe, 2007).

I fattori correlati all'animale comprendono:

- maturità dell'animale. La malattia respiratoria si riscontra con maggiore frequenza ed è più grave nei bovini giovani rispetto agli adulti, indipendentemente da considerazioni immunologiche, a causa della maturità funzionale del sistema respiratorio del bovino, che non viene raggiunta prima di un anno di vita (Lekeux, 1993)
- robustezza funzionale del sistema respiratorio, indica la capacità di garantire un adeguato scambio gassoso, la quale necessita di una significativa riserva di ventilazione; nei vitelloni da carne, la riserva di ventilazione è inadeguata, quindi la suscettibilità di questi animali alle malattie respiratorie è superiore a quelle che si riscontrano nelle razze da latte e le perdite per mortalità sono sicuramente maggiori (Bureau et al. 2001)
- condizioni generali
- grado di immunità raggiunto

I fattori di rischio ambientali sono rappresentati da:

- stress generato dai cambi di alimentazione
- stress indotto da variazioni di temperatura, umidità e ventilazione
- rimescolamento di animali con origine diversa
- dimensione della mandria (Gay e Barnouin, 2009)
- ambienti di stabulazione con scarso ricambio d'aria che favoriscono l'accumulo di agenti patogeni ed inquinanti, come polvere ed ammoniaca (Gay e Barnouin, 2009)

La BRD ha andamento stagionale, in autunno si aggrava in termini di incidenza e gravità raggiungendo l'acme nel periodo invernale per l'accentuarsi dei fattori predisponenti quali basse temperature ed alta umidità ambientale (Gay e Barnouin, 2009). La presenza nei mesi primaverili ed estivi è tendenzialmente sporadica, con focolai comunque gravi sul piano clinico ed economico (Galmozzi et al. 2009).

Diversi microrganismi partecipano nel causare il complesso della malattia respiratoria del bovino. Alcuni, come virus e micoplasmi, svolgono un ruolo primario nello sconvolgere i meccanismi di difesa dell'animale; altri, come i batteri e le loro tossine, hanno un ruolo cruciale nello sviluppo delle lesioni polmonari (Zecchinon et al. 2005). La maggior parte delle forme polmonari nascono per infezioni aeree, tuttavia alcuni casi possono insorgere tramite la via ematogena, soprattutto nelle polmoniti dei vitelli (Radostits et al. 2007).

Tra gli agenti di BRD riscontriamo:

- Virus: herpesvirus bovino tipo 1 (IBR); virus respiratorio sinciziale bovino; virus parainfluenzale tipo 3; virus della diarrea virale bovina; adenovirus bovino tipo 1-2-3; rinovirus; reovirus; circovirus
- Batteri: Mannheimia haemolytica; Pasteurella multocida; Mannheimia spp; Pasteurella spp; Histophilus somnus; Trueperella pyogenes; Streptococcus spp
- Micoplasmi: Mycoplasma bovis; Mycoplasma californicum; Mycoplasma dispar; Ureaplasma; Mycoplasma spp
- Parassiti polmonari: Dictyocaulus viviparus
- Agenti pneumotossici: D,L-tryptofano (Radostits et al. 2007; Lekeux e Coghe, 2007)

Nella pagina a fianco: Scolo nasale mucopurulento in vitello razza Bruna di pochi giorni di vita



## Guida ai livelli di prova e alla forza delle raccomandazioni

Nelle linee guida, le raccomandazioni vengono qualificate con un certo grado di forza della raccomandazione (FDR) e di livello di prova (LDP), espressi rispettivamente in lettere (da A a E) e in numeri romani (da I a VI). Con FDR ci si riferisce alla probabilità che l'applicazione nella pratica di una raccomandazione sia utile ai fini sanitari. Con LDP ci si riferisce alla probabilità che un certo numero di conoscenze sia derivato da studi pianificati e condotti in modo tale da produrre informazioni valide e prive di errori sistematici. Esistono diversi sistemi di gradazione per le prove di efficacia e per la forza delle raccomandazioni riportate in letteratura. Il sistema adottato in questa Linea Guida si basa sulla rielaborazione messa a punto dal Centro per la valutazione dell'efficacia dell'assistenza sanitaria (CeVEAS) di Modena. Questo sistema ha come principale caratteristica il fatto che la forza delle raccomandazioni non si basa soltanto sul tipo di disegno di studio, ma tiene conto anche di altri fattori, quali la fattibilità, l'accettabilità e l'economicità dell'intervento.

Forza delle raccomandazioni		Livelli di prova delle raccomandazioni	
A	comportamento o intervento fortemente raccomandato	I	in base a più studi clinici randomizzati e controllati, o revisioni sistematiche
B	comportamento o intervento raccomandato	II	in base ad almeno uno studio clinico randomizzato
C	comportamento o intervento da considerare, ma di impatto incerto	III	in base a studi di coorte
D	comportamento o intervento da disincentivare	IV	in base a studi caso-controllo
E	fortemente sconsigliato	V	in base a studi su serie di casi senza gruppo di controllo
		VI	in base a opinioni di esperti

Gli obiettivi di queste Linee guida sono:

1. Riassumere le conoscenze di base relative alla malattia, con una particolare attenzione dedicata a quelle con dirette ed importanti ricadute nella pratica quotidiana clinica, diagnostica e di controllo della malattia: questo al fine di permettere al lettore (tipicamente: il veterinario di campo) di trovare in un unico documento le risposte alle principali domande che la pratica quotidiana può porgli
2. Definire una serie di raccomandazioni, in particolar modo per la diagnostica ed il controllo della malattia, articolando le linee guida in modo tale da consentire di trovare al suo interno le ragioni che stanno alla base delle raccomandazioni suddette: questo per evitare di far assumere alle raccomandazioni il valore di postulato

# 1. Agenti eziologici della BRD

## Agenti batterici della BRD

I più comuni agenti patogeni batterici associati al patologia respiratoria del bovino (BRD) sono la *Pasteurella multocida*, *Mannheimia haemolytica* (precedentemente *Pasteurella hemolytica*), *Histophilus somni* (ex *Hemophilus somnus*) e *Mycoplasma bovis* (precedentemente *Mycoplasma agalactiae* subspecies *bovis*). Generalmente considerati come commensali del tratto respiratorio vengono a trovarsi normalmente nel tratto respiratorio superiore, ma possa in condizioni di stress e soppressione immunitaria dare danni gravi fino a mortali in tutto l'apparato respiratorio (Aich P. et al. 2009).

### *Pasteurella multocida*

Il genere *Pasteurella* appartiene alla famiglia delle *Pasteurellaceae* insieme ad altri generi come l'*Haemophilus* e *Actinobacillus*. Microrganismo coccobacillo o bacillo, Gram-, anaerobio facoltativo, immobile, ossidasi positivo, catalasi positivo, non emolitico (Poli, 2017). *Pasteurella multocida* ha 5 sierogruppi capsulari (A, B, D, E e F) e sierotipi somatici da 1 a 16 (Dabo SM. Et al. 2008, Boyce JD et al. 2000). La *Pasteurella multocida* più comunemente isolata durante focolai di patologia respiratoria del bovino è A: 3 seguita con un minor tasso di isolamento da D: 3 (Harper M et al. 2006). La *Pasteurella multocida* è più comunemente isolata nella polmonite di neonatale vitello e nella febbre da trasporto, ma è ben conosciuto il coinvolgimento del microrganismo nelle polmoniti del bovino che si evidenziano nel periodo di assembramento degli animali o durante il trasporto. (Dabo SM. Et al. 2008). A scatenare l'insorgenza delle infezioni da *Pasteurella multocida* sono tutti i possibili abbassamenti delle difese immunitarie che avvengono nell'ospite causate da condizioni ambientali non adeguate, cambiamenti climatici, stress alimentare, stress da trasporto o la concomitanza con altri agenti patogeni della BRD immunosoppressivi. La *Pasteurella multocida* viene isolata dalle secrezioni nasali in giovani vitelli e animali in svezzamento clinicamente sani con percentuali di isolamento che variano dal 20 al 60% (Dabo SM. Et al. 2008). La presenza del microrganismo in animali clinicamente sani suggerisce che il batterio è un commensale delle vie respiratorie del bovino, ma durante la patologia respiratoria l'isolamento di *Pasteurella multocida* è circa il doppio, quindi risulta essere un microrganismo attivo nella BRD (Prado ME. Et al. 2006, Fuller TE et al. 2000).

Nella pagina a fianco: Coltura mista di patogeni respiratori in piastra di Agar Sangue

# 1. Agenti eziologici della BRD

### *Mannheimia haemolytica*

*Mannheimia haemolytica* è generalmente considerata l'agente patogeno batterico più importante in corso BRD. *M. haemolytica* ha 12 sierotipi capsulari (1, 2, A5, A6, A7, A8, A9, A12, A13, A14, A16 e A17) (Loneragan GH et al. 2001, Booker CW et al. 2008, De Rosa DC et al. 2000, Katsuda K et al. 2008). I sierotipi più comunemente isolati da polmoni con patologia respiratoria sono A1 e A6, anche se il sierotipo A1 è riconosciuto come il predominante (Booker CW et al. 2008). La *M. haemolytica* è un batterio commensale che generalmente può essere isolato nel tessuto tonsillare drenato dal linfonodo retrofaringeo (Booker CW et al. 2008, DKatsuda K et al. 2008). Come nel caso della *P. multocida* è possibile isolare il microrganismo da



Grave pleuropolmonite fibrinonecrotica in vitellone da carne causata da *Mannheimia haemolytica*

tamponi nasali prelevati in animali sani, ma durante le forme cliniche l'isolamento aumenta molto (Booker CW et al. 2008). Il microrganismo risulta implicato nella polmonite fibrinosa dei giovani vitelli (polmonite enzootica) e negli animali da carne (shipping fever), nonché in bovini da latte. La polmonite fibrinosa rappresenta l'esito di una attiva infezione da *M. haemolytica* e trova riscontro in casi di mortalità nell'ambito di focolai di malattia respiratoria del bovino. In seguito al verificarsi di eventi stressanti, che influiscono sull'omeostasi immunitaria del bovino, *M. haemolytica*, replica rapidamente colonizzando il rinofaringe e si trasferisce tramite aerosol nel polmone. Durante la fase di crescita logaritmica il microrganismo produce la leucotossina (LKT) (Cavirani S. 2007). A basse concentrazioni LKT può attivare i neutrofili, stimolare il rilascio di citochine, ridurre la linfoblastogenesi e stimolare il rilascio di istamina da parte dei mastociti (Czuprynski C.J et al. 1992). Ad alte concentrazioni LKT provoca lisi dei leucociti e rilascio di enzimi lisosomiali responsabili del danneggiamento tissutale polmonare, da cui l'insorgenza di pleuropolmonite fibrinosa (Clinkenbeard K.D. et al. 1992). La presenza di un sito di legame specifico per LKT sui leucociti bovini è una tesi recentemente avanzata per spiegare l'attivazione e l'attività litica di *M. haemolytica* (Brown J.F. et al. 1997). È stato infatti dimostrato il legame tra LKT e la beta-2-integrina CD11a/CD18 (lymphocyte function-associated antigen, LFA-1). In caso di infezione virale, da BoHV-1 in particolare, si assiste ad un'aumentata espressione di LFA-1, evento che favorisce il legame tra LKT e leucociti. Detto processo è invocato a sostegno del ruolo patogenetico di *M. haemolytica* in corso di BRD, in cui alla componente virale succedono complicanze batteriche responsabili del decorso grave della malattia (Leite F. et al. 2004). L'infezione naturale da *M. haemolytica* evoca una risposta anticorpale verso la relativa citotossina (LKT), analogamente a quanto si verifica in seguito al trattamento con vaccini contenenti LKT. La produzione di LKT è legata all'attiva replicazione di *M. haemolytica* e pertanto la rilevazione di una risposta anticorpale specifica in corso di BRD può essere considerata una dimostrazione indiretta del coinvolgimento del microrganismo nella malattia respiratoria (Cavirani S et al. 2005).

### *Histophilus somni*

*Histophilus somni* (in precedenza denominato *Haemophilus somnus*) è stato riconosciuto come causa di numerose manifestazioni patologiche tra le quali forme di meningoencefalite tromboembolica (TME), pleuropolmoniti (Harris F.W. et al. 1989, Radostits O.M. et al. 2007), miocarditi (Wessels J. et al. 2005, Guichon P.T. et al. 1988), otiti (Mc Ewen A.S. et al. 1985), congiuntiviti (Harris F.W. et al. 1989), ma anche disordini nella sfera riproduttiva come vaginiti, endometriti, orchiti (Kreplin C.1991), mastiti (Grinberg A. et al. 1993, Higgins R. et al. 1987), infertilità e aborti.

to (Romero F.A. 2005). *H. somni* è un coccobacillo gram negativo, immobile non sporigeno, pleomorfo, ossidasi positivo, con crescita in atmosfera al 5-10% di CO<sub>2</sub>. Tipico è l'aspetto delle colonie di color giallo e indolo positivo (Romero F.A. 2005). Recentemente *Haemophilus somnus* è stato riclassificato ed assegnato alla famiglia *Pasteurellaceae* con il nome *Histophilus somni* (Angen O. et al. 2003). *H. somni* non è in grado di sopravvivere a lungo fuori dall'organismo, prove sperimentali hanno dimostrato che a 23.5 °C il microrganismo nel sangue o nelle secrezioni nasali sopravvive per meno di 70 giorni. *H. somni* non sopravvive per più di due ore nelle urine, ma queste, insieme alla inalazione, sembrano le vie più efficaci di diffusione dell'infezione (Harris F.W. et al. 1989). L'infezione è stata descritta per la prima volta nel 1956 con la forma di meningoencefalite trombotica (TME) e da allora sono state segnalate diverse sindromi associate alla presenza di *H. somni*, tanto da definirle "Haemophilus somnus disease complex" (Harris F.W. et al. 1989). Le patologie da *H. somni* colpiscono soggetti da una settimana di età ai 10 mesi, anche se il maggior numero di casi si riscontra dai 4 ai 10 mesi (Harris F.W. et al. 1989, Orr J.P. 1992). Generalmente, si manifesta nei bovini allevati in box nei mesi autunnali e invernali e può essere condizionata dallo stress conseguente al sovraffollamento, al freddo e al cambiamento delle condizioni meteorologiche. Non va dimenticato inoltre che questo microrganismo alberga normalmente nel primo tratto respiratorio e nell'apparato riproduttivo. Infatti più del 50% dei tori e l'8-10% delle vacche sono positivi sierologicamente, confermando l'estrema diffusione del microrganismo. *H. somni* inizialmente si localizza sulla superficie delle mucose, ma alcuni ceppi possono invadere il sistema circolatorio causando setticemia e vasculite; inoltre, la capacità di *H. somni* di sopravvivere nei macrofagi e granulociti neutrofili potrebbe essere importante nelle manifestazioni croniche (Radostits O.M. et al. 2007). Il batterio, soprattutto nelle forme di meningoencefalite trombotica, aderisce all'endotelio vasale e lo danneggia con conseguente superficializzazione del tessuto collagene subendoteliale che promuoverebbe fenomeni trombotici e vasculite, seguiti da necrosi dei parenchimi adiacenti (Siddaramppa S. et al. 2004, Corbeil L.B. 2007). Nel polmone il meccanismo patogenetico non è chiaro, anche se sembra legato alla capacità di questo microrganismo di produrre istamina. Infatti alcuni studi hanno dimostrato che ceppi di *H. somni* sono in grado di produrre e secernere l'istamina con l'aumentare della concentrazione di CO<sub>2</sub>, come si verifica nell'albero respiratorio (Ruby K.W. et al. 2002). La forma respiratoria ha fatto registrare un aumento dell'incidenza negli ultimi anni, laringiti, tracheiti, ma soprattutto broncopolmoniti e pleuriti fibrinose ne sono la maggiore espressione; i soggetti colpiti manifestano grave dispnea, murmure respiratorio rinforzato, fame d'aria. Anche l'incidenza della forma miocardica risulta aumentata; difficoltà respiratoria, intolleranza allo sforzo, cianosi della lingua e febbre, costituiscono la sintomatologia più comune.

### *Mycoplasma bovis*

*Mycoplasma bovis* rappresenta un agente batterico frequentemente coinvolto nella malattia respiratoria del bovino da carne. Ben conosciuto è il ruolo di questo microrganismo anche in altre patologie del bovino quali le otiti nel vitello, mastiti, cheratocongiuntiviti, endometriti, salpingiti e aborto nel bovino adulto. *M. bovis* è stato isolato per la prima volta nel 1961 negli USA da un caso di mastite in bovine da latte, si è poi diffuso in molti paesi attraverso la movimentazione degli animali. Ad oggi è diffuso in tutti i paesi europei ad esclusione della Norvegia (Maunsell FP et al. 2011). In Italia recenti studi hanno evidenziato la presenza di *M. bovis* nell'80% dei bovini da carne venuti a morte per patologie respiratorie (Rampin et al. 20010). Le caratteristiche biologiche del *M. bovis* influenzano notevolmente le manifestazioni cliniche, se non altro per la sua capacità di sopravvivere nell'ambiente e replicarsi sulle mucose. L'assenza della parete cellulare comporta una naturale resistenza nei confronti di alcuni antimicrobici a questo si associano fenomeni di antibiotico resistenza che si sono sviluppati nel corso degli anni. La maggior via di diffusione del patogeno è il contatto diretto con le secrezioni nasale, evento che nel caso dell'allevamento del bovino da carne risulta inevitabile. Dal punto di vista patogenetico *M. bovis* è in grado di aderire alle cellule epiteliali tracheobronchiali facilitando la colonizzazione del polmone. L'adesione del *M. bovis* alle cellule ospite è mediata da proteine di superficie (VSPs), una famiglia di lipoproteine della superficie batterica (Caswell JL. et al. 2008). Durante l'infezione naturale vi è la produzione di IgM ed IgG bovis-specifico nel siero oltre che IgA nei fluidi nasali. Le IgG sono rilevabili dai 7 ai 14 giorni post infezione, ma i titoli anticorpali specifici possono aumentare fino a 63 giorni dopo l'infezione. Per evadere la risposta immunitaria dell'ospite il *M. bovis* crea apoptosi dei linfociti ed è stato evidenziato, in vitro, come il frammento C-terminale della proteina di membrana VSPs danneggi la proliferazione linfocitaria. Inoltre, alcuni ceppi di *M. bovis* sono in grado di produrre un biofilm che associato a VSPs potrebbe avere un ruolo, oltre che nell'evadere il sistema immunitario dell'ospite, nel facilitare la sopravvivenza del microrganismo nell'ambiente. Il meccanismo patogenetico nel tessuto polmonare è ancora abbastanza incerto. Il *M. bovis* potrebbe essere in grado di produrre perossido di idrogeno durante l'ossidazione del NAD. Il perossido di idrogeno potrebbe provocare danni a livello del tessuto colonizzato. La bibliografia internazionale riporta che i bovini provenienti dalle zone pascolative hanno una prevalenza eziologica variabile dallo 0 al 7% al momento dell'introduzione in azienda, mentre dopo circa 15 giorni aumenterebbe fino al 10% dei capi presenti. Il *M. bovis* si può rilevare in cavità nasali e BAL. Ma non sempre è associato a patologia e proprio per questo risulta difficile capirne il ruolo patogenetico (Caswell JL et al. 2010). Il *M. bovis* è in grado di causare una broncopolmonite cronica con presenza di foci necrotici caseosi nelle aree colpite. La lesione risulta distribuita normalmente alle aree cranioventrali del polmone, e può estendersi dal 20 al 90% del parenchima polmonare. I foci necrotici appaiono normalmente rotondi, coalescenti con dimensioni variabili da qualche millimetro a qualche centimetro, di aspetto asciut-

to e friabile. Normalmente questa manifestazione anatomopatologica è abbastanza caratteristica, ma si possono evidenziare delle variazioni se l'infezione è associata ad altri microrganismi (Pancieri RJ et al. 2010).

## Agenti virali di BRD

La BRD è una patologia multifattoriale molti sono i virus implicati tra cui Herpes virus bovino tipo 1, virus respiratorio sinciziale bovino, virus parainfluenza 3, virus della diarrea virale, adenovirus, coronavirus e influenza D.

### Herpes virus bovino tipo 1

Bovine herpesvirus 1 (BHV-1) è un virus appartenente alla sottofamiglia di  $\alpha$ -herpesvirinae che causa significative perdite economiche nell'allevamento del bestiame (Turrin L. et al. 1999). Tre sottotipi BHV-1, BHV-1.1(1), BHV-1.2a (2a) e BHV-1.2b (2b), che sono stati identificati sulla base di antigenici e analisi genomica (Metzler AE et al. 1985). I ceppi del sottotipo 1 sono prevalenti in Europa, Nord America e il Sud America. Il sottotipo 2a è frequentemente associato ad un'ampia gamma di manifestazioni cliniche nel tratto respiratorio e genitale, come IBR, vulvovaginite pustolosa infettiva (IPV), balanopostite (IPB) e aborti (Van Oirschot et al 1995). Il sottotipo 2a è



Grave tracheite fibrinosa difteroide in bovino da carne causata da IBR virus

prevalente in Brasile, ed era presente in Europa prima degli anni 70. Sono associati a ceppi di sottotipo 2b la malattia respiratoria e IPV/IPB, ma non aborto. Ceppi di sottotipo 2b sono meno patogeni del sottotipo 1 e sono frequentemente isolati in Australia o in Europa, ma non il Brasile (Van Oirschot et al. 1995). La forma respiratoria da BHV-1 è la più comune. Le infezioni genitali possono verificarsi in tori (IPB) e vacche (IPV) entro 1 o 3 giorni dall'accoppiamento o stretto contatto con un animale infetto. La trasmissione può anche avvenire in assenza di lesioni e mediante inseminazione artificiale con seme da tori infetti. Il periodo di incubazione per le forme respiratorie e genitali di BHV-1 è da 2 a 6 giorni (Yates WD et al. 1982). I segni clinici di malattia respiratoria comprendono febbre alta, anoressia, tosse, scialorrea, secrezione nasale e congiuntivite con forte lacrimale, narici infiammate e dispnea, la laringe e i bronchi si possono occludere con materiale purulento. Le lesioni nasali consistono in numerosi gruppi di focolai necrotici grigi sulla mucosa del setto nasale. In assenza di polmonite batterica, il recupero si verifica in genere 4 a 5 giorni dopo l'inizio dei segni clinici. Gli aborti possono verificarsi contemporaneamente alla malattia respiratoria, ma anche fino a 100 giorni dopo l'infezione. In aggiunta ai segni clinici descritti precedentemente per BHV-1, BHV-1 può iniziare la patologia respiratoria sopprimendo transitoriamente il sistema immunitario dei bovini infetti (Yates WD et al. 1982). La soppressione immunitaria indotta, porta a infezioni batteriche secondarie (ad esempio da *M. haemolytica*, *P. multocida* e *H. somni*) che possono causare polmonite. La maggiore suscettibilità alle infezioni secondarie è correlata alla depressione della immunità cellulo-mediata indotta dall'infezione da BHV-1. Come accade per gli altri virus erpetici, il BoHV-1 dà luogo al fenomeno della latenza (Kahrs R.F. 1977). Dopo la replicazione primaria, il virus diffonde allo stato latente, soprattutto a livello dei monociti e dei gangli nervosi integrando il proprio genoma in quello della cellula infetta. Il virus può rimanere allo stato latente per periodi di tempo molto lunghi, anche per anni, senza che l'animale portatore mostri alcun sintomo. E' possibile ritrovare animali con infezione latente privi di anticorpi neutralizzanti. L'infezione può essere riattivata in seguito a stress di vario tipo (alimentari, ambientali, infezioni intercorrenti accompagnate da immunosoppressione, parto, picco di lattazione, etc.). In seguito alla riattivazione e soprattutto in assenza di un'adeguata immunità specifica, può seguire la ri-escrezione del virus, che è eliminato per via respiratoria, oculare, ed attraverso le secrezioni genitali incluso il seme (Kahrs R.F. 1977).

### Virus respiratorio sinciziale bovino

Il virus respiratorio sinciziale bovino (BRSV) è una delle principali cause di malattia respiratoria e porta un importante contributo al complesso della malattia respiratoria bovina (BRD) (Brodersen BW, 2010). BRSV infetta le vie aeree superiori e inferiori e viene secreto attraverso le secrezioni nasali. Questo virus è strettamente correlato al

virus respiratorio sinciziale umano (HRSV) (Smith MH, 1975). La stretta parentela tra BRSV e HRSV ha indotto numerosi ricercatori a capire i meccanismi patogenetici per produrre efficaci vaccini anche nel campo umano. BRSV è stato identificato per la prima volta in Europa nel 1970 (Paccaud MF et al. 1970, Wellemans G et al. 1970). Successivamente è stato identificato negli Stati Uniti nel 1974 (Rosenquist BD, 1974, Smith MH, 1974). Anche se da un'indagine sierologica fatta su bovini del Iowa nei primi anni '70 indicava l'81% dei capi provenienti da 43 allevamenti avevano anticorpi neutralizzanti (Smith MH, 1975). È noto da tempo come il BRSV è responsabile di epidemie di malattie respiratorie in categorie di animali diverse e questo è stato confermato da un'incidenza della sierconversione fino al 45% (Lehmkuhl HD et al. 1977). L'inoculazione sperimentale con BRSV ha provocato una malattia con vari gradi di gravità. Tre dei 5 vitelli inoculati svilupparono febbri a 40 °C con aumento della dispnea, anoressia, secrezione nasale sierosa, muso e malessere (Smith MH, 1975). Il virus era recuperabile con un tampone nasale oltre il 6° giorno dall'inoculazione. I vitelli svilupparono la febbre dal secondo giorno dopo l'inoculazione e durò fino al 6° giorno, quando le temperature gradualmente diminuirono (Elazhary MA et al. 1980). La concentrazione di virus nei tamponi nasali raggiunse il picco a 6 giorni dall'inoculo a una concentrazione fino a  $3.8 \log_{10}$  (TCID<sub>50</sub>)/ml. Altri studi hanno dimostrato segni clinici simili con temperature corporee fino a circa 40 °C, tosse, secrezione nasale e tachipnea compre-



Grave enfisema interstiziale nel parenchima polmonare in bovino adulto

se tra i giorni 3 e 9 dopo l'inoculazione (Mohanty SB et al. 1975, Castleman WL et al. 1985). La malattia assume i tipici caratteri che connotano il complesso respiratorio. Si osserva pertanto febbre, scolo oculo-congiuntivale e nasale, polmonite associata a dispnea. La malattia è solitamente acuta ma può decorrere in forma subclinica, paucisintomatica o grave, fino ad assumere esito mortale. La forma grave si connota per una duplice decorso patogenetico: l'effetto diretto del virus a livello di mucosa bronchiale produce una bronchiolite necrotizzante-ostruttiva; parallelamente si osserva una componente immunopatogenetica che, mediata dalla produzione di immunoglobuline E (IgE), innesca l'attivazione del complemento, producendo broncocostrizione. Il risultato complessivo è rappresentato da broncopolmonite a carattere interstiziale associata ad enfisema polmonare. L'enfisema, in casi estremi, esita in pneumotorace spontaneo. Nella patogenesi della malattia respiratoria indotta da BRSV permangono alcuni aspetti particolari tra cui l'andamento bifasico della malattia, ovvero una prima fase paucisintomatica seguita da una fase di silenzio clinico a cui succede la comparsa della sintomatologia clinica conclamata; episodi clinici ricorrenti nello stesso allevamento a breve distanza temporale; decorso clinico difforme, ovvero coesistenza di forme asintomatiche, paucisintomatiche o gravi connotate da morbilità e mortalità elevate. Dal punto di vista anatomopatologico le aree del polmone colpito a seguito di infezione da BRSV appaiono notevolmente congeste (Kimman TG et al. 1989). Queste lesioni si trovano principalmente nelle aree cranio ventrali del polmone e coinvolge singoli lobuli sparsi. In alcuni casi, può esserci enfisema a carico dei lobi caudali nella porzione dorsale del polmone. Lesioni microscopiche sia nelle infezioni sperimentali che naturali consistono in necrosi epiteliale bronchiale e bronchiolare, presenza di cellulari multinucleate associate con aree di bronchite o bronchiolite. Si vedono talvolta corpi di inclusione intracitoplasmatica eosinofila nelle cellule epiteliali nelle vie aeree (Pancierà RJ et al. 2010).

### Virus della diarrea virale

Il virus della diarrea virale bovina (BVDV) è uno dei principali agenti patogeni che colpiscono la specie bovina in tutto il mondo (Gunn GJ. et al. 2005). Questa evidenza scaturisce dalla sua elevata prevalenza riscontrata in molti paesi (Houe H. 1999) in associazione alla vasta gamma di effetti negativi diretti o conseguenti allo stato immunosoppressivo che il virus promuove quando circolante nelle mandrie a prescindere dall'indirizzo produttivo dei bovini (Charleston B et al. 2001). Nell'allevamento del bovino da carne, il BVDV è uno dei patogeni coinvolti a vario livello nella sindrome respiratoria bovina (Bovine Respiratory Disease: BRD), principale problematica sanitaria ed economica di questo settore (Pancierà R.J. et al. 2010). Il contributo del BVDV nelle forme respiratorie dipende da diversi fattori tra cui, il biotipo, la virulenza del ceppo virale, il tipo di infezione e la presenza di patogeni secondari (Ridpath J. 2010). Il BVDV è un

Pestivirus appartenente alla famiglia Flaviviridae, che comprende anche il virus della peste suina classica e il virus della border disease. Il BVDV è caratterizzato dall'esistenza di un biotipo citopatico ed uno non citopatico, in base al loro comportamento in coltura su tessuti cellulari. La trasmissione del virus avviene sia per via verticale che per via orizzontale a seguito di contatto diretto con soggetti infetti. Il soggetto contagiato per via orizzontale con uno dei biotipi virali va incontro ad un'infezione acuta con viremia transitoria che determina una bassa escrezione virale per un periodo limitato di tempo. L'infezione contratta invece dal feto prima del 125° giorno di gestazione per trasmissione verticale comporta la probabilità di originare un soggetto persistentemente infetto (PI). Il soggetto PI è caratterizzato da una scarsa aspettativa di vita e dalla eliminazione continua di una grande quantità di virus (Houe H., 1995, Grooms D.L. 2004, Brock K.V et al. 2005). BVDV è potenzialmente in grado di provocare direttamente una forma respiratoria clinica. Il patogeno è stato isolato a livello polmonare in corso di forme cliniche acute e non solo in soggetti PI (Booker CW et al. 2008, Potgieter LN 1997, Ellis JA et al. 1988, Liebler-Tenorio EM et al. 2002). In questo caso, la trasmissione del virus avviene generalmente tramite aerosol contaminato proveniente da espettorato o per contatto diretto con un animale infetto. Il periodo di incubazione varia da 5 a 7 giorni e la viremia permane per non più di 15 ma è fortemente connessa al grado di virulenza del ceppo virale, come allo stesso modo lo è la quantità di virus emessa in tale arco di tempo (Bolin SR et al. 1992, Harmers C. et al. 2000, Bolin SR et al. 1985). L'infezione si instaura a partire dalla mucosa nasale per poi estendersi ai linfonodi regionali e successivamente ad altri tessuti attraverso il sistema linfatico (Evermann et al 2005). Sebbene quindi l'apparato respiratorio non sia il suo sito di replicazione primaria, BVDV è in grado di danneggiare l'epitelio di rivestimento delle vie aeree e di provocare la deplezione del tessuto linfoide associato a tale apparato (Liebler-Tenorio EM et al 2002-2003-2004). Il ruolo primario di BVDV nell'eziopatogenesi della BRD emerge anche da diverse indagini sierologiche, le quali hanno dimostrato come i giovani bovini da carne all'arrivo nei siti d'ingrasso, se caratterizzati da elevati titoli anticorpali verso BVDV, hanno una minore probabilità di incorrere in problemi respiratori. Sebbene, l'infezione acuta da BVDV sia in grado di indurre direttamente la forma respiratoria clinica, il ruolo del virus nella BRD è maggiormente connesso alla sua capacità di favorire infezioni secondarie mediante due meccanismi: l'immunosoppressione e il sinergismo. Si stima infatti che il 70-90% delle infezioni del tratto respiratorio sostenute da BVDV siano di tipo sub-clinico (Ames TR 1986). Lo stato di immunosoppressione che accompagna le infezioni da BVDV deriva dalla capacità del patogeno di uccidere parte delle cellule linfoidee, riducendo quindi la quantità di linfociti circolanti, (Ridpath JF et al. 2007) e di ridurre la funzionalità delle cellule rimanenti (Chase CC et al. 2004) in entità variabile a seconda del biotipo e della sua virulenza. Oltre a promuovere infezioni secondarie conseguenti allo stato di immunosoppressione indotto, BVDV è in grado di attuare un sinergismo con altri patogeni sia virali che batterici.

## Coronavirus respiratorio

I coronavirus bovini (BCoV) causano infezioni respiratorie ed enteriche nei bovini e nei ruminanti selvatici (Saif LJ. 2007, Saif LJ et al. 1990). I BCoV appartengono alla famiglia dei Coronaviridae nell'ordine Nidovirales e sono membri del sottogruppo 2 a insieme con encefalomielite suina virus (HEV), CoV canino respiratorio e umano CoV-OC43 e HKU1 quest'ultimi causano sia forma enterica che respiratoria. BCoV è un virus pneumoenterico che infetta il tratto respiratorio superiore e l'intestino. BCoV è escreto nelle feci e nelle secrezioni nasali e infetta il polmone. BCoV è la causa di 3 sindromi cliniche distinte nei bovini: diarrea del vitello (CD), dissenteria invernale (WD) con diarrea emorragica negli adulti, e infezioni respiratorie nei bovini di età variabili che entrano nella complessa patologia respiratoria del bovino. BCoV è presente nei bovini in tutto il mondo questo è stato verificato sulla base della sieroprevalenza anticorpale BCoV. BCoV è associato a malattia respiratoria lieve (tosse, rinite) o polmonite in vitelli di età compresa tra 2 e 6 mesi (Saif LJ. 2010).

## Influenza D

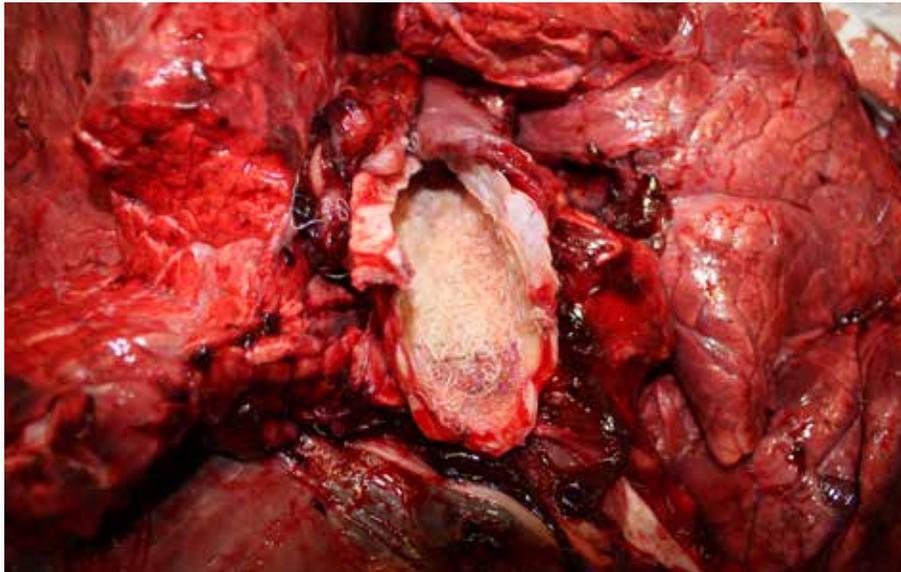
Nell'ambito della famiglia Orthomyxoviridae si annoverano i generi influenza A, B e C (IAV, IBV e ICV). IAV infetta l'uomo, varie specie di mammiferi e specie aviarie, queste ultime ritenute il serbatoio di persistenza del virus in natura. Nel 2011 in Oklahoma è stato isolato in suini affetti da sindrome simil-influenzale, un Orthomyxovirus (C/swine/Oklahoma/1334/2011) (C/OK), con caratteristiche antigeniche e genetiche considerate inizialmente sovrapponibili a quelle di ICV 7 (Hause BM et al. 2013). Tuttavia analisi genetiche approfondite hanno dimostrato che i due virus non sono sovrapponibili, ma, al contrario, risultano geneticamente ed antigenicamente distinti. Nonostante ICV e C/OK abbiano entrambi un genoma costituito da 7 segmenti, non sono in grado di riassortire in vitro, non evidenziano cross-reattività con sieri policlonali e presentano identità nucleotidica pari a circa il 50%. Il complesso delle osservazioni effettuate in questi studi ha indotto gli autori a proporre la codifica di un nuovo genere della famiglia Orthomyxoviridae, il "virus Influenza D" (IDV) (Hause BM et al. 2014). Oltre che negli USA (Hause BM et al. 2014, Collin EA et al. 2015, Ferguson L. et al. 2015) la circolazione di IDV è stata poi dimostrata nei bovini in Cina, Francia, Italia e recentemente anche in Giappone e Messico (Jiang WM 2015, Ducatez MF et al. 2015, Chiapponi C. et al. 2016, Mitra M. et al. 2016, Murakami S. et al. 2016). Si è così fatta strada l'ipotesi che il bovino non solo possa rappresentare l'ospite reservoir per questo virus, ma che IDV possa svolgere un ruolo patogenetico nell'ambito del complesso morbo denominato Bovine Respiratory Disease (BRD), problematica assai diffusa e a forte impatto economico dell'allevamento intensivo sia da latte che da carne.

### Parainfluenza 3

Il virus della Parainfluenza 3 è compreso nel genere Paramyxovirus della famiglia Paramyxoviridae dove sono stati evidenziati più tipi distinti di virus che colpiscono sia l'uomo che specie animali diverse. Sebbene non sia scientificamente corretto attribuire un ruolo preciso al virus Parainfluenza 3 nel complesso quadro patogenetico che contraddistingue la patologia respiratoria, esistono numerosi studi atti a considerare il virus un elemento importante per l'insorgenza e l'evoluzione della sindrome, anche se sempre in associazione con altri agenti di infezioni sia batterici che virali. L'infezione viene di solito introdotta in allevamento con nuovi soggetti che molto spesso albergano in virus in forma latente, replica a livello delle vie aeree superficiali e profonde con eliminazione nell'ambiente esterno. La patologia si manifesta a seconda dello stato immunitario del soggetto e della concomitanza con altri patogeni (Castrucci 1980).

### Dictiocaulosi dei bronchi

Nei bronchi, la presenza di parassiti filiformi è caratteristica della dictiocaulosi causata da un nematode dal nome di Dictyocaulus viviparus. L'esame dei bronchi, compresi quelli distali, è sicuramente la condizione necessaria alla loro evidenziazione perché in genere all'esame esterno non si osserva nulla di significativo. Le lesioni dei bronchi si manifestano con un'ipersecrezione di muco ed un'invasione del loro lume. Sui lobuli dipendenti da questi bronchi, si può apprezzare un affossamento rossobordeaux



Presenza di adulti di Dictyocaulus viviparus in trachea di bovino adulto

(atelettasia) oppure un enfisema terminale, a volte molto netto. Nei bronchi i parassiti adulti si osservano circa 3 settimane dopo l'infestazione da parte delle larve. Questa parassitosi è tra le cause predisponenti la patologia respiratoria del bovino (Mike A. Taylor, 2010).

## 2. Patogenesi e aspetti clinici

Il complesso della malattia respiratoria del bovino deriva da un'alterazione dell'equilibrio fra la capacità di difesa dell'ospite ed i potenziali fattori patogeni. Questa perdita dell'equilibrio si sviluppa nella maggior parte dei casi nei capi che non sono in grado di superare una modificazione del proprio ambiente o di adattarsi ad essa. Lo stress interferisce con i meccanismi di clearance e di difesa dell'apparato respiratorio, promuovendo la proliferazione di microrganismi e la produzione delle loro tossine (Zecchinon et al. 2005). I maggiori meccanismi di difesa del tratto respiratorio includono: filtrazione attraverso le cavità nasali; starnuti; riflesso laringeo; tosse; meccanismo di trasporto mucociliare; anticorpi locali e sistemici; macrofagi alveolari (Radostits et al. 2007).

Le vie aeree superiori del bovino non sono un ambiente sterile, infatti colonie di *Pasteurella*, *M. haemolytica* e altri patogeni si trovano normalmente nelle cavità nasali di animali sani, quindi quando un animale subisce uno stress (come conseguenza di un trasporto, dello svezzamento o di un'infezione virale), un microrganismo prolifera e riesce ad accedere all'ambiente, normalmente sterile, delle vie aeree profonde (Lekeux e Coghe, 2007). Per contrastare questa invasione si ha la mobilitazione dei neutrofili nel parenchima polmonare, nel tentativo di fagocitare e digerire i batteri; tuttavia, alcuni microrganismi come *M. haemolytica* produce una leucotossina che può distruggere questi neutrofili (Czuprynski et al. 2004; Thumbikat et al. 2005). Quando questi muoiono, le cellule infiammatorie rilasciano enzimi neutrofilici, ed altri mediatori dell'infiammazione (ad es., radicali liberi e proteasi) che causano un grave danno del tessuto polmonare. In teoria, le citochine agiscono a tutti i livelli dell'infiammazione, come l'avvio, l'amplificazione, il mantenimento e la scomparsa del processo flogistico, e sono in grado di eliminare l'agente eziologico quando la coordinazione e la regolazione risultano in armonia. Il controllo dell'infiammazione, quale meccanismo fisiologico, necessita di un equilibrio appropriato fra i mediatori pro infiammatori e quelli antinfiammatori; per il controllo endogeno dell'infiammazione polmonare è necessario un equilibrio appropriato fra i mediatori proinfiammatori e quelli antinfiammatori. Ad esempio, si suppone che l'interleuchina 4, l'interleuchina 10, i glucocorticoidi, le lipossine e le proteine epatiche di fase acuta inducano una modulazione endogena della flogosi. Nella maggior parte dei casi, tuttavia, tale modulazione è insufficiente a prevenire l'infiammazione (Boutet P et al. 2003). Come conseguenza, la risposta immunitaria dell'ospite può causare complicazioni più gravi di quelle dovute ai microrganismi stessi. Si ha uno stress infiammatorio, cioè lo squilibrio fra mediatori proinfiammatori ed antinfiammatori e, di conseguenza, si verifica una disfunzione polmonare, che si manifesta come ipersecrezione, broncoostrizione, edema della mucosa e edema interstiziale ed alve-

Nella pagina a fianco: Scolo nasale mucopurulento in vitellone da carne di 10 mesi

## 2. Patogenesi e aspetti clinici

olare. Nonostante la tachipnea, queste disfunzioni impediscono la ventilazione alveolare e la diffusione gassosa alveolo-capillare e inducono la discordanza fra ventilazione e perfusione, il che esita in un cattivo scambio gassoso (ipossiemia ed ipercapnia). Le disfunzioni, unitamente alle lesioni polmonari, sono responsabili dell'elevato tasso di mortalità e dei danni irreversibili osservati nel BRDC. (Lekeux e Coghe, 2007).

## Sintomi clinici della BRD

I sintomi clinici della patologia non sono patognomonicamente di un agente patogeno rispetto ad un altro e sono del tutto comuni ai sintomi respiratori visti nelle altre specie.

I sintomi più importanti sono:

- Respiro rapido e superficiale, evidenziabile nelle prime fasi della patologia
- Scolo nasale da sieroso a mucopurulento, può esserci o meno a seconda della quantità di essudato presente nei bronchioli e dal grado di coinvolgimento delle vie respiratorie superiori
- Scolo oculo congiuntivale di tipo sieroso, abbondante nei primi stadi di malattia
- Tosse, è un sintomo importante che ci può dare informazioni sulla natura dell'infiammazione. Per esempio in infezioni di tipo batterico la tosse è più frequentemente umida e dolorosa; mentre in infezioni virali la tosse è secca e frequente
- Suoni respiratori anormali, tra cui sibili e crepitii a seconda del danno polmonare
- Dispnea, si verifica nella fase tardiva della polmonite, quando ormai gran parte del parenchima è danneggiato
- Scialorrea presente quando l'animale respira con la bocca aperta
- Cianosi, si verifica solo nelle fasi finali quando gran parte del parenchima è danneggiato

Animali con broncopolmoniti acute batteriche presentano febbre, anoressia, depressione del sensorio, tachicardia, riluttanza al movimento e al coricamento, suoni respiratori patologici, e dispnea nelle fasi finali. In casi di polmonite interstiziale acuta, gli animali presentano grave dispnea, ansietà, respirazione attraverso la bocca con emissione di rumori nella fase espiratoria, e possibile morte per insufficienza respiratoria asfittica. Nei casi di broncopolmonite cronica l'animale appare di aspetto dimesso con

mantello arruffato, ha febbre moderata ma persistente e la frequenza respiratoria e cardiaca è al di sopra della normalità; la profondità della respirazione è aumentata sia in inspirazione che in espirazione, e può esserci nei casi più gravi respirazione boccale con emissioni di rumori nella fase espiratoria; comune è invece la presenza di uno scolo nasale abbondante muco purulento bilaterale e di tosse produttiva cronica (Radostits et al. 2007).

## Stadi della BRD

Nonostante la grande varietà di combinazioni di agenti patogeni che sono state implicate come causa di BRD, l'entità clinica che si manifesta con maggiore frequenza è la broncopolmonite. L'aspetto clinico di questa sindrome dipende direttamente dalle relazioni fra i fattori eziologici e, secondo Coghe 1999, può essere classificato in 4 gradi, in funzione dell'entità della malattia, dei meccanismi fisiopatologici implicati e del livello di reversibilità.

**Malattia subclinica o grado 1.** L'animale riesce a controllare la proliferazione degli agenti patogeni grazie all'appropriato funzionamento delle sue difese fisiologiche. Non si ha alcuna reazione infiammatoria significativa, il che indica che la disfunzione polmonare evidente è assente o di modesta intensità ed i segni clinici possono mancare.

**Malattia clinica compensata o grado 2.** L'attacco all'apparato respiratorio e la conseguente reazione infiammatoria generano vari meccanismi che tendono a limitare l'impatto funzionale sull'animale in accordo con il principio del feedback negativo. Ad esempio, l'ipossiemia e l'ipercapnia stimolano i centri della respirazione, esitando in un incremento della ventilazione alveolare. La colonizzazione del tratto respiratorio da parte di microparticelle stimola la clearance mucociliare. Il tono dei muscoli respiratori aumenta, il che migliora l'efficienza respiratoria. La vasocostrizione ipossica impedisce la perfusione da parte del sangue delle zone polmonari mal ventilate, per correggere le inadeguatezze del rapporto fra ventilazione e perfusione. Questi meccanismi agiscono per porre rimedio alla compromissione dello scambio gassoso. La reazione infiammatoria e gli adattamenti funzionali che l'agente patogeno induce sono utili in questa fase e non dovrebbero, come logica conseguenza, essere sistematicamente trattati.

**Malattia clinica non compensata o grado 3.** Lo squilibrio fra i fattori patogeni e l'animale è così significativo che la reazione infiammatoria che ne deriva è tanto violenta che le reazioni dell'animale tendono ad aggravare il deficit funzionale, in accordo con il principio del feedback positivo. Ad esempio, l'ipossiemia tissutale aumenta il metabolismo anaerobico e genera lo sviluppo dell'acidosi metabolica, il che di conseguen-

za aggrava l'acidosi respiratoria dovuta all'ipercapnia. Ne derivano la disfunzione dei centri del respiro e l'inadeguatezza della clearance mucociliare. Lo spostamento delle cellule ematiche all'interno dei polmoni può determinare una quantità eccessiva di mediatori dell'infiammazione, enzimi proteolitici e radicali dell'ossigeno. Questo eccesso influisce negativamente sulla muscolatura liscia del polmone, sulla permeabilità di membrana e sull'integrità del tessuto polmonare, aggravando ulteriormente i deficit dello scambio gassoso. L'animale soffre più per effetto di queste disfunzioni e delle lesioni indotte dalla reazione infiammatoria che come conseguenza degli agenti patogeni stessi. Questa eccessiva risposta flogistica e gli inappropriati adattamenti funzionali che essa genera vanno controllati completamente per prevenire un esito sfavorevole.

**Malattia clinica irreversibile o grado 4.** Le lesioni polmonari generate sia dagli agenti patogeni che dagli enzimi proteolitici o dai radicali dell'ossigeno rilasciati dalle cellule infiammatorie, oppure dai disordini meccanici indotti dai mediatori proinfiammatori, minacciano il livello di rendimento dell'animale e perfino la sua sopravvivenza. (Lekeux e Coghe, 2007).



Nella pagina a fianco: Scolo nasale mucopurulento in vitello razza Bruna di pochi giorni di vita

### 3. Anatomia patologica

Le caratteristiche e il tipo di lesione polmonare che possiamo evidenziare in corso di necropsia sono determinati dalla copresenza di batteri causali e patogeni concomitanti o predisponenti, nonché dall'efficacia o inefficacia dei meccanismi di difesa dell'ospite. Inoltre, le caratteristiche della lesione sono fortemente dipendenti dall'acutezza o dalla cronicità della lesione e anche dal tipo, dal numero e dalla lunghezza dei trattamenti ricevuti. I patogeni batterici inalatori colonizzano prima la giunzione broncoalveolare e superate le difese dell'ospite, creano infiammazione nel sito e si diffondono attraverso le vie aeree contigue o attraverso componenti adiacenti del tessuto polmonare per produrre tre tipi di polmonite. Questi sono broncopolmonite suppurativa (chiamata anche lobulare broncopolmonite), polmonite fibrinosa o pleuropolmonite (detta anche lobare polmonite o broncopolmonite fibrinosa) e polmonite caseonecrotica (anche chiamato polmonite micoplasmatica) (Caswell JL et al. 2007, Lopez A et al. 1987). Questi vari tipi di broncopolmonite sono classificati in base al tipo di essudazione presente e sono influenzati dai vari fattori di virulenza batterica, dalla resistenza dell'ospite e dalla rapidità e metodo di diffusione dell'infezione nel polmone.

#### Broncopolmonite suppurativa

Questa forma di polmonite è la forma più comune osservata nella BRD dei giovani vitelli da latte e il più delle volte associato con l'infezione da *P. multocida* (Andrews GA et al. 1997, Caswell JL et al. 2007). La broncopolmonite suppurativa inizia quando vi è la colonizzazione bronchiale di batteri moderatamente virulenti con successiva diffusione progressiva lungo le vie respiratorie fino al bronchiolo all'interno di cia-

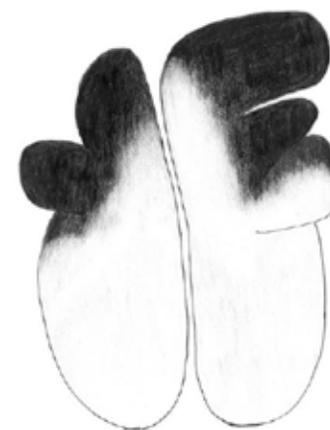


Fig. 1 | Distribuzione e aspetto macroscopico delle lesioni polmonari nella broncopolmonite suppurativa

### 3. Anatomia patologica

scun lobo polmonare. La polmonite è bilaterale, distribuita cranioventralmente (fig. 1). Nelle lesioni acute, i lobi colpiti sono di colore abbastanza uniforme che varia dal rosa, rosa-grigio, rosso scuro, rosso-grigio, o grigio con edema del setto interlobulare da minimo a moderato. La pleurite di solito non è presente; tuttavia, se presente, consiste in piccoli foci di opacità pleurica e piccoli filamenti di fibrina. Sulla superficie di taglio del polmone possiamo evidenziare foci purulenti, il lobuli limitrofi sono rappresentate da aree di infiammazione con colorazione rosa a rosso scuro, congestione e atelettasia. Poiché la broncopolmonite diventa cronica, la palpazione rivela una trama polmonare più consolidata con più evidente bronchite purulenta, bronchiectasie e formazione di ascessi. La fibrosi inter e intralobulare è presente. In casi cronici, *T. pyogenes* può essere isolata da bronchioli e ascessi.

### Polmonite fibrinosa

Questa forma di polmonite è tipicamente quella indotta da infezioni da *M. haemolytica* e in misura minore misura *H. somni* ed è la forma più comune nella polmonite acuta in svezzamento o nei bovini da carne nel caso di shepper fever (Andrews GA et al. 1997, Caswell JL et al. 2007). La polmonite fibrinosa si manifesta con una diffusione centrifuga del processo infiammatorio dal luogo primario di colonizzazione nei bronchioli e lobuli adiacenti. La rapida diffusione intra e interlobulare di *M. haemolytica* è dovuta al effetti di LPS sull'integrità vascolare, gli effetti citolitici di LKT sui leucociti e macrofagi polmonari e gli effetti degli enzimi e mediatori rilasciati durante il processo infiammatorio (Rice JA et al. 2007, Confer AW et al. 1995). La polmonite fibrinosa è bilaterale, distribuita cranioventralmente, con grave consolidamento polmonare e



Fig. 2 | Distribuzione e aspetto macroscopico delle lesioni polmonari nella polmonite fibrinosa

difficilmente comprimibile (fig. 2). La polmonite fibrinosa è caratterizzata da ampia distensione dei setti interlobulari con edema gelatinoso giallo o fibrina. I trombi fibrotici possono essere visibili nei vasi interlobulari. I lobi hanno un aspetto marmorizzato, termine descrittivo che indica che ogni lobulo ha un colore uniforme che va dal rosa, rosa-marrone, rosso scuro, al rosso-grigio a formare un patchwork multicolore. Possono essere presenti dei foci necrotici che sono solitamente delineati da una linea pallida che è formata da accumuli di cellule infiammatorie. La pleuropolmonite fibrinosa (polmonite fibrinonecrotica e pleuropolmonia) è allo stesso modo una polmonite bilaterale, cranioventrale, marmorizzata in cui è presente una pleurite fibrinosa di intensità variabile. Nelle fasi iniziali sono presenti una granulosità pleurica e piccoli frustoli di fibrina rossastra. Più tardi, strati di fibrina gialla possono oscurare l'aspetto del polmone sottostante. Sono presenti aderenze fibrinose tra parietale e pleura viscerale. Il fluido giallo ricco di fibrina all'interno della cavità pleurica è altamente variabile in quantità. Al contrario della polmonite da *M. haemolytica*, la polmonite da *H. somni* può essere associata a miocardite.

### Broncopolmonite caseo-necrotica

Negli ultimi anni in Nord America, questo tipo di polmonite è stato riconosciuto come caratteristico di infezione cronica da *Mycoplasma*, in particolare *M. bovis* (Haines DM et al. 2001). In molti studi sulla BRD, hanno dimostrato che *Mycoplasma* spp può essere isolato in oltre il 70% dei casi di polmonite solitamente in combinazione con altri batteri. *Mycoplasma* spp colonizza l'epitelio ciliato delle vie respiratorie producendo una leggera bronchite mucopurulenta e bronchiolite e, attraverso l'infezione persistente, può sviluppare lesioni polmonari (Caswell JL et al. 2007). Con l'infezione da *M.*

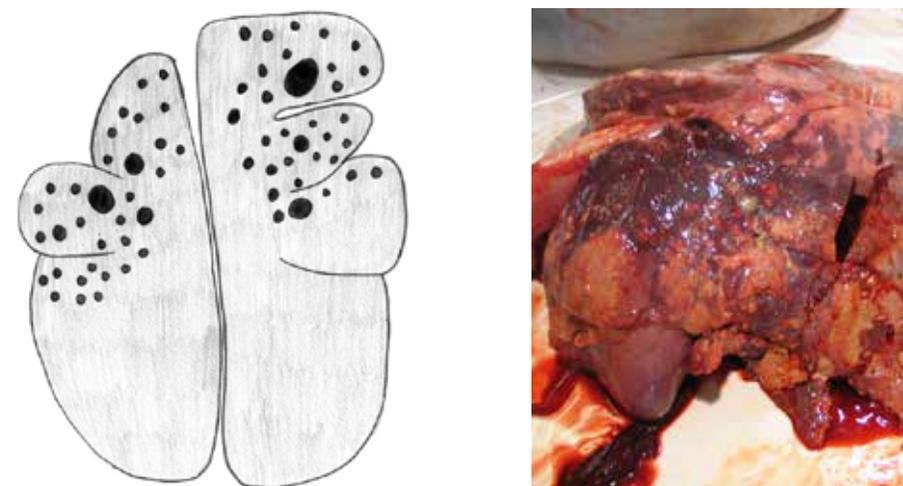


Fig. 3 | Distribuzione e aspetto macroscopico delle lesioni polmonari nella broncopolmonite caseo-necrotica

*bovis*, molti vitelli sviluppano una polmonite cronica, multifocale, caseosa con necrosi all'interno dei lobi dei polmoni cranici (broncopolmonite caseonecrotica, fig. 3). Sebbene la patogenesi di questa lesione non è ancora del tutto conosciuta, l'antigene batterico è presente nei foci necrotici del tessuto polmonare (Adegboye DS et al. 1995, Rodriguez Fet al. 1996). Durante la necropsia è possibile evidenziare i lobi aumentati di volume e consolidati, molto spesso sono palpabili anche dei noduli. Grappoli di foci necrotici caseosi sono presenti all'interno dei lobuli e hanno dimensioni variabili da 1 a 10 mm di diametro. Il tessuto lobulare circostante è spesso di colore grigio uniforme fino al rosso scuro. Nelle lesioni più gravi, i foci necrotici si coalizzano e possono coinvolgere un intero lobulo. Quando il polmone viene "spremuta", il materiale necrotico si stacca in una piccola massa o in più pezzi asciutti di colorazione biancastra (Pancieri RJ et al. 2010).

### Polmonite interstiziale

Il termine polmonite interstiziale designa una lesione piuttosto che una malattia. La polmonite interstiziale è caratterizzata macroscopicamente da un considerevole aumento di volume dell'organo, dovuto oltre alla proliferazione del connettivo di sostegno, a concomitante enfisema alveolare ed anche interstiziale. Il colore è variegato per la contemporanea presenza di aree enfisematose (grigio-roseo), di qualche area atelettasica e soprattutto di numerose aree infiammatorie. Complessivamente il colore del polmone è più chiaro che nelle comuni flogosi catarrali e fibrinose. La pleura è di norma esente da alterazioni, ma nel bovino lascia spesso intravedere per trasparenza bolle d'aria allineate a corona di rosario lungo i setti interlobulari (fig. 4). Anche la

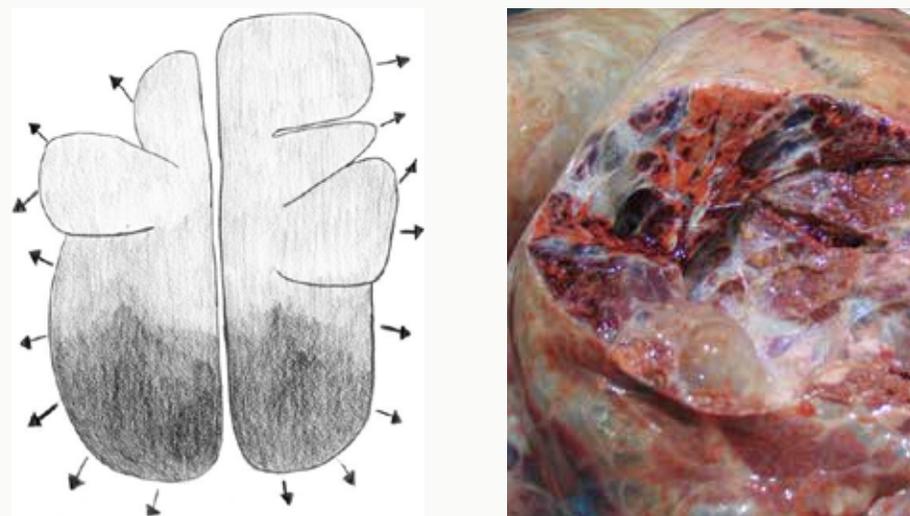


Fig. 4 | Distribuzione e aspetto macroscopico delle lesioni polmonari nella polmonite interstiziale

consistenza varia notevolmente nelle diverse aree colpite: appare cotonosa in quelle enfisematose e può essere invece aumentata e talvolta decisamente soda in quelle flogistiche. Il peso del polmone colpito è assai aumentato. Al taglio, il parenchima polmonare mostra lo stesso aspetto variegato della superficie esterna. I lobuli possono essere ampiamente scollati dall'enfisema interstiziale. I bronchi e i bronchioli mostrano pareti ispessite e spesso contengono zaffi di catarro vischioso o addirittura muco-pus. Ci sono molte cause di polmonite interstiziale, che includono virus, come BRSV; migrazione delle larve dei parassiti; meccanismi immunitari; gas tossici; e forse condizioni ambientali (Mason GL et al. 2004, Woolums ARL et al. 2001).

### Epidemiologia della patologia respiratoria

La malattia respiratoria rappresenta la principale patologia dell'allevamento da carne in tutto il mondo ed ha notevole impatto sulla redditività. Infatti è causa di mortalità e di vendite sottocosto di soggetti cronici, abbassa inoltre le performance di crescita ed è responsabile della gran parte dei costi in medicinali, sia in prevenzione che in terapia. L'incidenza della BRD in allevamento è variabile e dipende dal livello gestionale della mandria e può oscillare da un 10% in allevamenti con una buona managerialità, fino al 100% dell'intera partita in allevamenti con scarsa attenzione alle tecniche di condizionamento. In ogni caso la patologia respiratoria rappresenta il 40-80% delle cause di mortalità che si verifica durante il periodo di adattamento (Galmozzi G. et al 2009).

La BRD è una patologia ad andamento stagionale, in autunno si aggrava in termini di incidenza e gravità raggiungendo l'acme nel periodo invernale per l'accentuarsi dei fattori predisponenti quali umidità e basse temperature. Fra le diverse variabili individuali e di gruppo, il peso e l'età degli animali sono quelle che maggiormente influenzano la morbilità e la gravità della BRD. Il sesso e la razza, da alcuni indicati come condizionanti la BRD, di fatto sono a loro volta direttamente correlati al peso, inferiore nei bovini di sesso femminile o nei soggetti di razza Limousine rispetto ai Charolaise (Galmozzi G. et al. 2009). Nell'allevamento intensivo italiano la BRD si presenta normalmente entro le tre settimane successive al ristallo, scatenato principalmente dallo stress da trasporto e dal cambio alimentare. La patologia esordisce con sintomi generali (abbattimento e riduzione dell'appetito) che, nell'arco di poche ore, si accompagna a febbre, dispnea, tosse, scolo nasale (catarrale e/o mucopurulento) che nei casi più gravi, senza un adeguato intervento, evolvono in pochi giorni verso una polmonite grave che può condurre a morte l'animale. La tempestività e l'adeguatezza dell'intervento farmacologico rappresentano i fattori più importanti per una prognosi favorevole ed un rapido recupero delle capacità produttive (Muraro M. et al. 2008).

Nell'allevamento della vacca da latte la patologia respiratoria si può manifestare in diverse fasi produttive, ma il momento più critico è lo svezzamento del vitello, dove

la colostratura, l'ambiente di allevamento e l'alimentazione possono interferire nell'incidenza della patologia respiratoria. I danni causati dalla BRD sono effetti immediati come il costo per la terapia e in caso di assenza di risposta alla stessa morte dell'animale, ma i danni polmonari che può subire l'apparato respiratorio possono portare ad una riduzione del volume respiratorio effettivo nell'animale adulto, che possono influire negativamente sulla vita produttiva dell'animale. Infatti studi di Stanton et al. 2012 mettono in evidenza come la manifestarsi della patologia respiratoria nei primi due mesi di vita del vitello porti ad una riduzione della sua crescita con una media di  $14.3 \pm 2.1$  kg rispetto alle vitelle che non hanno manifestato la patologia respiratoria. Questa minor crescita ha avuto poi un risvolto negativo sul momento del parto infatti la probabilità di partorire entro i 25 mesi di età è stata di 0.6 volte inferiore in vitelle con BRD ( $P = 0.01$ ) rispetto ad animali che non hanno avuto patologia respiratoria. Quindi anche in questa tipologia di allevamento, la prevenzione della patologia respiratoria con una buona gestione dell'ambiente e dell'alimentazione nonché della colostratura nei giovani animali risultano le basi fondamentali per la salvaguardia della funzionalità dell'apparato respiratorio.



## 4. Diagnosi in allevamento

Come già ricordato i bovini sembrano essere più suscettibili alle malattie respiratorie a causa delle loro caratteristiche anatomiche e fisiologiche. È stato ipotizzato che i bovini abbiano una maggiore probabilità di esposizione polmonare a patogeni a causa della loro maggior ventilazione polmonare in risposta ad una bassa capacità di polmonare rispetto ad altre specie di mammiferi (Viet HP et al. 1978). Inoltre i lobuli sono separati completamente da setti interlobulari. La compartimentazione nel polmone bovino può predisporre all'ipossia localizzata nel polmone distale e a bronchioli terminali soprattutto durante i periodi in cui le vie aeree sono occluse. La compartimentazione in combinazione con la iperventilazione del polmone rende il bovino il maggior candidato per la patologia respiratoria (Mariassy AT et al. 1975).

Per una corretta diagnosi della patologia il primo passo risulta essere la scelta degli animali da campionare. Il veterinario che opera in allevamento non ha la possibilità di sacrificare animali sintomatici in allevamento come potrebbe essere nell'allevamento avicolo e suino, diventa quindi estremamente importante scegliere i capi per un adeguato campionamento antemorten. Gli animali da selezionare devono essere rappresentativi del problema respiratorio in allevamento, dovrebbero essere nelle prime fasi della malattie e quindi presentare una sintomatologia acuta, presentare quindi anoressia, febbre, dispnea, scolo nasale, importante che questi animali non siano trattati (vedi fig. 5). Se gli animali presentano lesioni croniche possono essere campionati solamente se la nostra diagnosi mira al riconoscimento di agenti patogeni secondari.

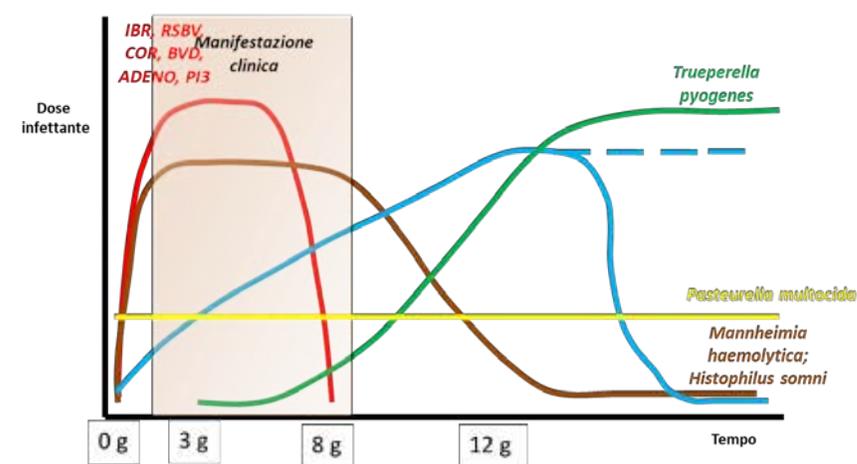


Fig. 5 | Sequenza dei patogeni respiratori durante un episodio BRD

## 4. Diagnosi in allevamento

Durante il campionamento sarà opportuno recuperare dati clinici e anamnestici utili alla diagnosi e che saranno utilizzati dal laboratorio per affinare la diagnosi e scegliere le metodiche analitiche più adeguate per il raggiungimento dell'obiettivo.

Tra le informazioni da ottenere prima del campionamento quelle di seguito ci possono aiutare a definire il caso:

1. Età degli animali colpiti
2. Età di esordio della patologia, numero di giorni dall'arrivo in stalla per bovini da carne, giorni dallo svezzamento in caso di vitelli
3. Caratteristiche del box/stalla, dove è esordito il problema (ambiente, lettiera, alimentazione). Cambiamenti nella gestione, prima dell'inizio del problema
4. Mortalità e morbilità nel corso del problema respiratorio in atto e confronto con mortalità degli anni precedenti
5. Durata della malattia degli animali colpiti e individui selezionati per il campionamento
6. Durata del problema nella mandria
7. Segni clinici e sequenza di insorgenza.
8. Trattamenti e loro risposta. Qualsiasi trattamento somministrato agli animali campionati
9. Fattori comuni tra gli animali colpiti
10. Vaccinazioni del gruppo colpito e campionato
11. Quarantena e isolamento, se presenti
12. Eventuali interventi di biosicurezza
13. Sospetto del veterinario
14. Sospetto del proprietario della causa del problema (Blanchard PC. et al. 2000)

Tutte queste informazioni ottenute anche al telefono o ancora meglio riportate in una scheda, portano a risultati migliori soprattutto nella scelta dei test da utilizzare in laboratorio con un minor spreco economico. Le metodiche di campionamento possono essere molteplici nell'animale in vita e saranno scelte in base al sospetto diagnostico e alle caratteristiche cliniche dei soggetti che si vogliono campionare.

### Tamponi nasali e faringei

Il tampone nasale consente di identificare i patogeni presenti nelle cavità nasali ed è spesso usato in sostituzione del lavaggio tracheale o del lavaggio broncoalveolare per la diagnostica antemortem. Il tampone nasale ha un buon valore predittivo per i virus, meno per i batteri (animali portatori sani di batteri nelle cavità nasali). Godinho KS et al. 2007, ha dimostrato però, che tamponi nasofaringei utilizzati nella diagnostica predittiva non invasiva nei vitelli per la ricerca di *Manheimia haemolytica* e *Mycoplasma bovis* erano altamente rappresentativi degli isolati presenti nel polmone. Non esistono invece lavori simili per le forme virali. Questo metodo tuttavia, è una buona tecnica per monitorare gruppi di animali durante la malattia respiratoria, risulta essere un metodo molto facile ed economico, questi fattori sembrano giustificare l'utilizzo in ambito clinico.

Materiale da raccogliere	Secreto nasale
Agenti patogeni da ricercare	<p>Ricerca in biologia molecolare (PCR) per agenti virali (IBR, BVD, PI3; VRSB, Coronavirus respiratorio, Influenza D, etc.): tampone senza terreno di trasporto o tampone immerso in 1 ml di soluzione fisiologica</p> <p>Isolamento virale in colture cellulari: tampone senza terreno di trasporto immerso in MEM (Minimal Essential Medium)</p> <p>Ricerca in biologia molecolare (PCR) per <i>Histophilus somni</i>, <i>Mannheimia haemolytica</i> e <i>Mycoplasma bovis</i>: tampone senza terreno di trasporto</p> <p>Esame batteriologico per ricerca di <i>Pasteurella multocida</i>, <i>Mannheimia haemolytica</i>, <i>Mycoplasma spp</i> e <i>Histophilus somni</i>: tampone con terreno di trasporto (Amiens, BHI)</p>
Tipologie di campione	<p>Tampone da 18 cm senza terreno di trasporto (per vitelli)</p> <p>Tampone da 18 cm in terreno agarizzato (per vitelli)</p> <p>Tampone da 30-45 cm con guaina, senza terreno di trasporto (per bovini adulti)</p>
Animali da campionare	<p>Animali strettamente a contatto con animali clinicamente malati (scolo nasale mucoso o mucopurulento, temperatura superiore a <math>\pm</math> a 39.5 °C)</p> <p>Da 3 a 5 animali clinicamente malati (meglio entro 3 gg dall'inizio di sintomi e non oltre i 7gg)</p>

Procedura di campionamento	<p>Procedere al contenimento del soggetto</p> <p>Indossare guanti meglio se sterili</p> <p>Pulire l'esterno delle cavità nasali con carta inumidita con fisiologica o alcol, ripetere l'operazione fino alla completa pulizia delle cavità nasali esterne</p> <p>Introdurre il tampone nasale in profondità possibilmente verso l'alto in direzione del meato dorsale</p> <p>Sfregare il tampone sulla mucosa per circa 5 secondi muovendo il tampone avanti e indietro</p> <p>Rimuovere il tampone e inserirlo nel tubo sterile</p>
Per i tamponi senza mezzo di trasporto aggiungere 1 ml di soluzione sterile al 0.9% di NaCl. Nel caso di utilizzo di un mezzo di trasporto, immergere completamente il tampone nel mezzo indicato	
Conservazione e tempo di invio	<p>Tamponi senza terreno di trasporto: conservare a +4 °C e inviare entro 12-24 ore oppure congelare, solo nel caso dell'esecuzione di metodiche diagnostiche biomolecolari (PCR)</p> <p>Tamponi con terreno di trasporto: conservare a +4 °C e inviare entro 12-24 ore</p>

### Lavaggio trans tracheale/lavaggio broncoalveolare

Lavaggio trans tracheale e/o lavaggio broncoalveolare sono tecniche antemortem, che possono fornire campioni per un approccio diagnostico più ampio rispetto al tampone nasale o nasofaringeo. I campioni possono essere valutati mediante tecniche citologiche per definire il quadro infiammatorio e fornire un ottimo substrato per l'isolamento di agenti virali, batterici, parassitari e fungini. I campioni possono essere utilizzati sia per la coltura che per metodiche di biologia molecolare. Può essere inoltre condotta anche l'immunoistochimica (IHC) per agenti virali e batterici su strisci diretti dei campioni.

### Lavaggio trans tracheale

Il lavaggio trans-tracheale può consentire l'identificazione diretta dei patogeni responsabili di BRD direttamente dal tratto profondo dell'apparato respiratorio (bronchi polmonari e bronchioli). Questo metodo di campionamento ha un ottimo valore predittivo sia per batteri (non sono possibili contaminazioni batteriche, possibili nel

corso del l'effettuazione del tampone nasale, e non esistono portatori sani di batteri a livello tracheo-bronchiale) che per i virus (certezza dell'implicazione virale nell'episodio clinico).

Materiale da raccogliere	Liquido di lavaggio aspirato a livello tracheo-bronchiale
Agenti patogeni da ricercare	<p>Ricerca in biologia molecolare (PCR) per agenti virali (IBR, BVD, PI3; VRSB, Coronavirus respiratorio, Influenza D, etc.) e batterici <i>Histophilus somni</i>, <i>Mannheimia haemolytica</i> e <i>Mycoplasma bovis</i></p> <p>Isolamento virale in colture cellulari IBR, BVD, PI3; VRSB, Coronavirus respiratorio, Influenza D</p> <p>Esame batteriologico per ricerca di <i>Pasteurella multocida</i>, <i>Mannheimia haemolytica</i>, <i>Mycoplasma spp</i> e <i>Histophilus somni</i></p> <p>Esame citologico</p>
Materiale per l'esecuzione	<p>Ago con mandrino o ago cannula</p> <p>Catetere monouso sterile della lunghezza di almeno 75 cm e del diametro di circa 1.5-2.5 mm</p> <p>Siringa monouso da 100 ml</p> <p>Soluzione fisiologica sterile (0.9% NaCl)</p>
Animali da campionare	Animali clinicamente malati in fase acuta con scolo nasale mucoso o mucopurulento, temperatura superiore a $\pm$ a 39.5 °C. Il prelievo eseguito in fase tardiva consente comunque di rilevare patogeni responsabili di BRD

Procedura di campionamento	<p>Indossare guanti sterili</p> <p>Solo se necessario sedare il soggetto</p> <p>Procedere al contenimento del soggetto, con testa e collo in estensione completa</p> <p>Procedere alla rasatura e disinfezione della zona del collo compresa tra il terzo inferiore e il terzo medio del collo</p> <p>Rilevare gli anelli tracheali ed inserire l'ago-mandrino tra gli anelli tracheali. Introdurre l'ago parallelamente all'asse tracheale rivolto verso il basso verso le vie aeree inferiori</p> <p>Introdurre il catetere flessibile attraverso l'ago per almeno 50cm, fino a provocare il riflesso della tosse (il catetere si posizionerà a livello della biforcazione tracheale)</p> <p>Iniettare almeno 50 ml di soluzione fisiologica (non fredda) e aspirare immediatamente</p> <p>Si raccoglieranno tra 2 e 10 ml di liquido aspirato che saranno trasferiti in una provetta sterile</p> <p>Ritirare l'ago seguito dal catetere</p>
Conservazione e tempo di invio	I campioni prelevati mediante lavaggio trans-tracheale vanno conservati a +4 °C ed inviati in laboratorio entro 12 ore (massimo entro 24 ore). E' possibile eseguire le analisi in pool fino a 3 campioni

### Lavaggio Broncoalveolare (LBA)

Il lavaggio bronco-alveolare consente di identificare i patogeni responsabili di BRD in tutto il tratto respiratorio profondo (bronchi polmonari, bronchioli e alveoli). Il lavaggio bronco-alveolare, rispetto al LTT presenta i seguenti vantaggi e svantaggi:

**Vantaggi:** consente di raccogliere campioni a livello bronchiale, ideale per la ricerca VRSB (il materiale ottenuto è ricco di cellule alle quali è associato il virus), consente di ottenere un elevato volume di raccolta (fino a 100 ml).

**Svantaggi:** la procedura può essere a rischio di contaminazione dalle vie aeree superiori.

Materiale da raccogliere	Liquido di lavaggio bronco-alveolare
Agenti patogeni da ricercare	<p>Ricerca in biologia molecolare (PCR) per agenti virali (IBR, BVD, PI3; VRSB, Coronavirus respiratorio, Influenza D, etc.) e batterici <i>Histophilus somni</i>, <i>Mannheimia haemolytica</i> e <i>Mycoplasma bovis</i></p> <p>Isolamento virale in colture cellulari IBR, BVD, PI3; VRSB, Coronavirus respiratorio, Influenza D</p> <p>Esame batteriologico per ricerca di <i>Pasteurella multocida</i>, <i>Mannheimia haemolytica</i>, <i>Mycoplasma spp</i> e <i>Histophilus somni</i></p> <p>Esame citologico</p>
Materiale per l'esecuzione	<p>Sonda/cannula per lavaggio-broncoalveolare senza fibroscopio</p> <p>E' possibile utilizzare un aspiratore adattato</p> <p>Siringa monouso da 50 ml</p> <p>Soluzione fisiologica sterile (0.9% NaCl)</p> <p>Provette sterili</p>
Animali da campionare	Animali clinicamente malati in fase acuta con scolo nasale mucoso o mucopurulento, temperatura superiore a $\pm$ a 39.5 °C
Procedura di campionamento	<p>Procedere al contenimento del soggetto, con testa e collo con moderata estensione</p> <p>Indossare guanti sterili</p> <p>Si possono utilizzare due tecniche:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>Attraverso il naso <ul style="list-style-type: none"> <li>- pulire le narici</li> <li>- introdurre la sonda o cannula nella narice</li> <li>- il soggetto tossisce al momento dell'entrata in trachea</li> </ul> </li> <li>Per via buccale <ul style="list-style-type: none"> <li>- introdurre la sonda nella bocca e spingere verso il basso</li> <li>- monitoraggio manuale e visivo dell'esofago per verificare che la progressione della sonda/cannula avvenga nella trachea</li> <li>- il soggetto tossisce al momento dell'entrata in trachea</li> <li>- una volta raggiunte le vie respiratorie profonde (bronchi primari) iniettare almeno 100 ml di soluzione fisiologica tiepida e ri-spirare immediatamente con una seconda siringa</li> <li>- di raccoglieranno tra 30 e 100 ml di liquido aspirato che saranno trasferiti in un contenitore sterile</li> </ul> </li> </ol> <p>Ritirare sonda/cannula</p>

Conservazione e tempo di invio	I campioni prelevati mediante lavaggio trans-tracheale vanno conservati a +4 °C ed inviati in laboratorio entro 12 ore (massimo entro 24 ore). E' possibile eseguire le analisi in pool fino a 3 campioni
--------------------------------	---

### Campioni postmortem

I campioni diagnostici post mortem per essere più rappresentativi possibili della patologia respiratoria dovrebbero provenire da animali morti nei primi stadi della malattia e non trattati. Animali con polmonite cronica che sono stati trattati con una varietà di antimicrobici forniscono scarse informazioni sull'agente primario di infezioni, questi animali devono essere sottoposti ad indagini diagnostiche solo nel caso si voglia avere informazioni sulla tipologia di lesione anatomopatologica o sul coinvolgimento di agenti infettivi secondari. In alternativa, animali che hanno subito una terapia antimicrobica potrebbe fornire informazioni sulla resistenza batterica dei singoli agenti isolati.

I campioni che devono essere prelevati in corso di autopsia per un corretto campionamento sono elencati nella Tabella 1 e rappresentano i campioni necessari per effettuare una corretta diagnosi. E' importante ricordare che se l'animale viene sottoposto ad eutanasia è opportuno raccogliere il siero e plasma dell'animale prima della sua morte. Tutti gli organi prelevati devono essere maneggiati il meno possibile e inseriti in sacchetti di plastica tenendoli suddivisi in modo da ridurre al minimo la contaminazione degli organi per poter isolare gli agenti eziologici. Inoltre i campioni devono essere preparati affinché possano essere utilizzate per l'esame istologico o per PCR o esami colturali. I campioni di polmone fresco dovrebbero essere conservati a temperatura di refrigerazione, mentre i tessuti fissati in formalina possono essere mantenuti a temperatura ambiente.

Tabella 1. Materiale da prelevare per una corretta diagnosi di patologia respiratoria

Polmone	3 o 4 sezioni di polmone rappresentati da porzioni di polmone sane e malate ad uno spessore di 5 mm e immerso in formalina
Polmone, cuore	Prelevare preferibilmente tutto il polmone con cuore o 2 pezzi di polmone di circa 200 g e mantenere refrigerato
Siero	3-5 mL (dopo rimozione del coagulo, refrigerato a 4 °C)
Trachea, laringe, faringe	Prelevare completa o porzione ed eventualmente fissare in formalina le parti interessate da lesioni
Milza, rene, fegato	Freschi, refrigerati e fissati in formalina se necessari per la valutazione della malattia
Liquido cefalorachidiano	Prelevare fresco da foro occipitale in caso di patologie respiratorie a decorso rapido

## 5. Diagnosi di laboratorio

La polifattorialità della malattia respiratoria prevede l'utilizzo di più metodiche diagnostiche che vengono scelte in base al materiale che viene recuperato nel focolaio di patologia.

I test diagnostici sono strumenti che dovrebbero essere selezionati in base a diversi criteri, tra cui la qualità del campione, la domanda diagnostica, gli obiettivi del richiedente, l'anamnesi, le capacità del laboratorio diagnostico e non meno importante anche l'aspetto economico. Specificità e sensibilità dei test diagnostici non sono informazioni statiche, ma cambiano con il tempo, con le nuove metodiche, la qualità del campione, i tempi del processo patologico, etc. Tutti questi input influenzano l'albero decisionale nella scelta di un diagnostico.

### Sierologia

L'interpretazione sierologica delle malattie respiratorie nei bovini è estremamente difficile. Molte volte la vaccinazione e il momento di prelievo rispetto all'inizio della sintomatologia possono falsare le interpretazioni del test diagnostico, inoltre risulta importante anche la selezione degli animali durante il campionamento. I test sierologici sono sempre fatti su siero e non sul plasma e dovrebbero essere prelevati circa 0,5 ml di siero per ogni anticorpo ricercato.

I test specifici per i vari patogeni respiratori sono:

1. IBR anticorpi totali e/o IBR gE in animali vaccinati con deleto (ELISA)
2. Virus sinciziale bovino anticorpi (ELISA o SN)
3. BVD/NS anticorpi (ELISA o SN) animali non vaccinati con vaccini vivi
4. Coronavirus respiratorio anticorpi (ELISA)
5. Parainfluenza 3 anticorpi (ELISA)
6. Influenza D anticorpi (HI)
7. *Mycoplasma bovis* anticorpi (ELISA)
8. *Mannheimia haemolytica* anticorpi (ELISA)

Nella pagina a fianco: Prelievo ematico da vena coccigea

## 5. Diagnosi di laboratorio

## Batteriologia

Polmone e gli altri organi parenchimatosi prelevati durante l'esame autoptico per l'esame batteriologico dovrebbero essere costituiti da pezzi abbastanza grandi da essere sterilizzati sulla superficie per il campionamento di tessuti più profondi. Il campione dovrebbe essere minimo la dimensione di un grande limone e la sierosa esterna dovrebbe essere integra per garantire che l'organo non sia contaminato da agenti esterni, proprio per questa ragione è opportuno molte volte prelevare l'organo intero. Gli organi raccolti dovranno essere inseriti in sacchetti di plastica sterili e ben sigillati. Il materiale raccolto dovrebbe essere in buone condizioni di conservazione e raccolto il più presto possibile dopo la morte per evitare la contaminazione superficiale, il campione dovrà poi essere conservato a temperatura di refrigerazione e non congelato fino al laboratorio. Se possibile, sarebbe meglio utilizzare tessuti di animali non trattati. Per quanto concerne lavaggi transtracheali, lavaggi broncoalveolari, tamponi nasofaringei o nasali, dovrebbero essere raccolti da animali non trattati entro 1 o 2 giorni l'esordio della malattia. Questi campioni devono essere mantenuti refrigerati. Il laboratorio provvederà all'esame batteriologico mediante semina su AS e MCC e in brodo di arricchimento TSB +YE ed incubazione a 37 °C con il 5% di CO<sub>2</sub> per 24-48 ore. Questa tipologia di esame batteriologico porterà alla evidenziazione di microrganismi quali: *Pasteurella multocida*, *Mannheimia haemolytica*, *Histophilus somni* ecc, *Pasteurella* spp, *E.coli*, *Arcanobacterium pyogenes* etc.

## Diagnostica biomolecolare

La diagnostica biomolecolare mediante PCR e altre tecniche, compresa l'analisi di microarray, hanno sostituito le più classiche procedure diagnostiche incluso l'isolamento virale e altri microrganismi difficilmente coltivabili con le metodiche tradizionali come *Mycoplasma* spp e altri organismi "fastidiosi". Sebbene fornisca risultati rapidi con alta specificità e sensibilità, questi test possono essere alterati da autolisi e contaminazione batterica, proprio per questo i campioni dovrebbero essere raccolti il più rapidamente possibile, senza contaminazioni marcate e mantenuti refrigerati fino al laboratorio.

La diagnosi mediante tecniche biomolecolari viene attuata normalmente nei confronti di:

1. IBR
2. Virus sinciziale bovino
3. BVD
4. Coronavirus respiratorio

5. Influenza D
6. *Histophilus somni*
7. *Mycoplasma bovis*
8. *Mannheimia haemolytica*

Le matrici su cui viene attuata sono porzioni d'organo, tamponi a secco, lavaggi broncoalveolari o trans tracheali.

## Virologia

L'isolamento dei virus è usato raramente nei moderni laboratori diagnostici infatti è stato sostituito in gran parte con tecniche di test molecolari e IHC per l'identificazione di organismi. Questa metodica viene utilizzata nel caso di isolamento virali di ceppi per collezione e/o per studi genetici, viene utilizzata anche in tutti quegli episodi di patologia respiratoria in cui non si riesce a identificare la causa virale o batterica nel contesto di sintomatologia e lesioni anatomopatologiche caratteristiche della malattia respiratoria, quindi quando si sospetta patogeni respiratori non riscontrabili con metodiche biomolecolari.

## Istopatologia e IHC

Il tessuto parenchimale da sottoporre ad esame istologico dovrebbe essere tagliato con uno spessore di circa 5 mm e una lunghezza di 3-4 cm di lunghezza e fissato con formalina al 10%. Il rapporto ottimale tra formalina e tessuto è 10:1. E' opportuno che ogni sezione prelevata preveda la copresenza di tessuto malato e tessuto sano. Il campione in formalina dovrà essere mantenuto a temperatura ambiente fino all'arrivo al laboratorio, dove sarà processato secondo le metodiche di routine del laboratorio. Inoltre nel tessuto fissato potranno essere eseguite IHC per l'identificazione del microrganismo nel contesto della patologia evidenziata al fine di definire il ruolo patogenico del all'agente evidenziato.

## Parassitologia

Lo scolo nasale può contenere uova o larve. La tosse può verificarsi nel periodo di prepatenza, prima che gli adulti si sviluppino e depositino le uova. I nematodi si evidenziano nelle vie aeree durante l'esame autoptico, oppure possono essere ottenuti me-

diante lavaggi nasali o bronchiali, i campioni devono essere mantenuti freschi e inviati refrigerati al laboratorio.



## 6. Controllo della malattia in allevamento

La caratteristica principale della BRD è quella di avere una complessa eziologia (virale e batterica), condizionata da una grande quantità di fattori che possono aumentare il rischio e la gravità della patologia. Il suo controllo, richiede, quindi, la predisposizione di adeguate strategie al fine di limitarne l'incidenza e contenere i danni correlati. A questo riguardo, l'identificazione dei fattori di rischio e l'implementazione di specifiche strategie di intervento, associata ad un efficace controllo vaccinale, ad un intervento terapeutico tempestivo e mirato, e, ove necessario, metaflattico o preventivo nei confronti della componente batterica, è alla base del successo nel campo della gestione della BRD.

Per quanto attiene i fattori di rischio, a quelli tipici, che caratterizzano i bovini in generale come la ridotta dimensione del comparto polmonare rispetto alla massa corporea che si traduce nell'aumento dell'attività respiratoria basale, ridotta riserva di ventilazione e ridotta quantità di macrofagi alveolari (Bureau F. et al. 2001) ed una ridotta attività del lisozima, (Radostits et al. 2007) si aggiungono le peculiarità dell'allevamento intensivo del bovino. Mentre nel caso dell'allevamento della vacca da latte il problema è abbastanza limitato e in genere presente nel comparto vitellaia, l'allevamento del bovino da carne risulta essere il più colpito, soprattutto nei primi 30 giorni di allevamento in Italia. Infatti, in assenza di un numero di fattrici di razze da carne italiane sufficiente a soddisfare la richiesta di vitelli da ingrasso, è tuttora consistente l'importazione di vitelli da ristallo provenienti da Paesi esteri e, in particolare, dalla Francia. Quindi, gli animali completano il loro ciclo di ingrasso in un sito differente da quello di nascita (Mottaran D. et al. 2016). Di conseguenza, gli animali sono esposti ad una serie di eventi stressanti legati al trasporto, all'adattamento alle nuove strutture (ad esempio la pavimentazione su grigliato), ad uno spazio e a livelli di ventilazione non adeguati, a nuove interazioni sociali tra i bovini e con l'uomo e a nuovi regimi alimentari. Inoltre, non va trascurato il fatto che gli spostamenti legati all'importazione (allevamento di origine, centri di raccolta e allevamenti di ingrasso) favoriscono la diffusione degli agenti patogeni, rendendo complesso l'approccio profilattico e terapeutico. L'importanza della gestione dei fattori di rischio è stato oggetto di una ricerca, eseguita in allevamenti italiani, che evidenzia che il ruolo di una corretta gestione ambientale e manageriale (spazio disponibile  $\geq 4\text{-}5\text{m}^2/\text{capo}$ , gestione quotidiana della lettiera, abbeveratoi adeguati e buon livello di interazione uomo/animale e almeno 5 fasi alimentari), a parità di protocollo di condizionamento vaccinale e sanitario, consente di ridurre non solo l'incidenza della BRD (dal 28,4% al 6,5%), ma anche delle patologie dell'apparato locomotore (Sgoifo et al. 2013). Tra gli interventi strutturali e i cambiamenti gestionali ritenuti importanti, vanno inclusi (oltre alla dimensione dei box, che devono assicurare uno spazio di almeno  $4\text{ m}^2/\text{capo}$ ) anche l'adozione di corridoi/spazi

## 6. Controllo della malattia in allevamento

dedicati all'esecuzione degli interventi profilattico-sanitari all'arrivo degli animali, una corretta tosatura e pesatura, che consenta la costituzione di gruppi omogenei, e, per ultimo, ma non per ultimo, la predisposizione di una stalla all'arrivo per garantire una buona "quarantena". La quarantena serve a ridurre il contagio di agenti infettivi tra gli animali, meglio quindi se fatta in ambiti isolati dal resto dell'allevamento. In alternativa se l'allevamento è fatto da lotti di partite omogenei e con pesi elevati si può utilizzare la stalla che ospiterà i capi per tutto il ciclo produttivo dopo un adeguato periodo di vuoto sanitario, periodo in cui verrà fatta la pulizia e disinfezione dei locali della durata di almeno 10 gg che verrà occupata in pochi giorni (2-3 gg). Quindi sarebbe opportuno avere stalle di piccole dimensioni isolate fra loro con un ciclo di tutto pieno-tutto vuoto. Particolare cura in questa fase, è l'adattamento alimentare degli animali che possono arrivare da impostazioni alimentari diverse (pascolo e integrazione di concentrati e foraggi insilati). L'obiettivo è di adeguare la funzionalità ruminale alle elevate performance richieste nel ciclo di ingrasso.

Oltre alla quarantena è opportuno che in allevamento sia garantita la presenza di un'area adibita ad infermeria (per la separazione dei soggetti ammalati dai soggetti sani) della capienza almeno di 2% dell'effettivo, questo permette di recuperare un notevole numero di animali problema.

In ogni caso, rimane il problema della diversa provenienza dei soggetti e del loro rimescolamento nelle varie fasi di allevamento.

Quindi, diventa indispensabile la predisposizione di adeguati interventi sanitari (profilattici e terapeutici).



## 7. Vaccinazione

Attualmente in Italia, sono disponibili vaccini, vivi attenuati o inattivati, destinati alla prevenzione delle infezioni (virali e batteriche) sostenute da: Rinotracheite Infettiva del Bovino (IBR), Virus Respiratorio Sinciziale del Bovino (VRSB), Virus della Diarrea Virale del Bovino (BVD), Virus della Parainfluenza 3 del bovino (PI3), *Mannheimia haemolytica* del bovino, *Histophilus somni*, *Pasteurella multocida* del bovino. Non sono disponibili, al momento, vaccini per la prevenzione di due importanti patogeni, coinvolti nella BRD e precisamente il Coronavirus Respiratorio Bovino (BCV) e il *Mycoplasma bovis*.

Per vaccino si intende una "preparazione antigenica, costituita o dal microrganismo (virus, batteri o protozoi) o da frazioni glicoproteiche del microrganismo stesso o da sue tossine, che, somministrata all'ospite, induce una reazione immunitaria specifica, di tipo mucosale, umorale o cellulo-mediata (in relazione alle caratteristiche del vaccino ed alla via di somministrazione), che lo proteggerà, in futuro, dall'aggressione del patogeno verso cui è stato vaccinato" (G. Poli et al. 2017).

Nella scelta del tipo di vaccino da utilizzare, vanno tenuti in considerazione i seguenti punti:

- a. **Le caratteristiche del vaccino.** Le metodiche utilizzate, al fine di ridurre od eliminare completamente il rischio vaccinale, pur preservandone l'efficacia immunizzante (ad esempio attenuazione, per i vaccini vivi, utilizzo di ceppi vaccinali vivi eterologhi o omologhi non patogeni, o inattivazione per i vaccini spenti). La via di somministrazione (locale o parenterale), per i vaccini vivi. La composizione del vaccino (vaccini monovalenti o polivalenti)
- b. **Gli animali ai quali è destinato il vaccino.** L'età degli animali da sottoporre a vaccinazione. In particolare, va considerata la presenza degli anticorpi colostrali che può interferire con la risposta vaccinale e la completa maturazione della competenza immunitaria. Lo stato immunitario dei soggetti, che può essere condizionato da pregresse vaccinazioni o da un precedente contatto con i patogeni; in entrambi i casi la vaccinazione induce un consistente booster. L'eventuale stato di gravidanza degli animali da sottoporre a vaccinazione

Schematizzando possiamo suddividere i vaccini attivi nei confronti delle patologie respiratorie e/o riproduttive dei bovini, nelle seguenti categorie:

### Vaccini virali

- Vaccini vivi attenuati, convenzionali a virus intero

## 7. Vaccinazione

- Vaccini vivi, a virus omologhi apatogeni
- Vaccini vivi, modificati geneticamente (marker di termosensibilità)
- Vaccini vivi attenuati, deleti (marker gE-)
- Vaccini inattivati, convenzionali, a virus intero, o contenenti glicoproteine
- Vaccini inattivati, deleti (marker gE-)

### Vaccini batterici

- Vaccini inattivati, contenenti leucotossine (*M. haemolytica*)
- Vaccini inattivati, contenenti antigeni capsulari (*M. haemolytica*)

## Vaccini virali

### Vaccini vivi attenuati tradizionali

Questa categoria di vaccini è allestita con stipti vaccinali che sono attenuati, normalmente, attraverso passaggi seriali su colture cellulari; in tal modo i virus perdono gran parte del loro potere patogeno, pur conservando un grado di replicazione tale da indurre una risposta protettiva negli animali vaccinati.

### Vaccini vivi apatogeni

In alcuni casi sono utilizzati ceppi vaccinali naturalmente apatogeni, i quali sono stati isolati da animali infetti, che non presentavano segni clinici di malattia. Essi conservano tutte le potenzialità replicative ed immunogene tipiche dei virus vivi, con un profilo assoluto di innocuità. Dopo somministrazione per via intranasale, inducono una consistente risposta immunitaria locale (IgA), ed un'elevata quantità di interferone, sia a livello delle prime vie respiratorie, che a livello delle vie respiratorie profonde; inoltre, grazie all'attiva replicazione nel torrente circolatorio, sono in grado di indurre elevati livelli di immunità umorale ed una consistente immunità cellulo-mediata.

### Vaccini vivi attenuati modificati geneticamente (termospecifici)

Questi vaccini, somministrati per via endonasale, sono in grado di moltiplicarsi a livello della mucosa nasale; una volta superata la barriera dei turbinati, la replicazione è drasticamente ridotta a causa della caratteristica di termospecificità (caratteristica che ne

condiziona la replicazione a temperature inferiori ai 37 °C). In tal modo i virus vaccinali, non sono in grado di raggiungere in elevate quantità le vie respiratorie profonde e gli organi interni e sono quindi innocui per il prodotto del concepimento e per l'apparato riproduttore.

### Vaccini attenuati deleti IBR (Marker gE-)

I vaccini IBR deleti sono caratterizzati da una completa delezione del gene che codifica per la produzione della glicoproteina E (gE-). La delezione, evidenziata, in mutanti di ceppi virali, dopo un certo numero di passaggi su colture cellulari, e non dopo manipolazione genetica (non OGM), consente di differenziare, su base sierologica, gli animali vaccinati da quelli che sono stati infettati dal virus di campo. Gli animali vaccinati non potranno sviluppare una specifica risposta anticorpale nei confronti della glicoproteina E, risposta che invece compare negli animali infettati o vaccinati con vaccini tradizionali non deleti. Un vaccino delecto gE- è di per sé attenuato, pur conservando intatta la sua attitudine replicativa.

### Vaccini inattivati

I vaccini virali inattivati utilizzano antigeni "uccisi" che, dopo inattivazione, perdono totalmente la loro possibilità di replicazione e quindi la loro pericolosità. Oppure, nel caso dei vaccini a sub-unità, si utilizzano vaccini che contengono solo parti antigenicamente attive del virus patogeno. In entrambi i casi i vaccini conservano la loro potenzialità immunogena. Come per i vaccini vivi deleti, i vaccini inattivati deleti marker gE- si distinguono dai vaccini inattivati convenzionali unicamente per la presenza della delezione del gene che codifica per la glicoproteina E; quindi dal punto di vista dell'efficacia e dell'innocuità presentano caratteristiche simili a quelle dei vaccini inattivati tradizionali.

## Vaccini batterici

I vaccini batterici inattivati possono contenere:

- leucotossine inattivate (*M. haemolytica*)
- antigeni capsulari (*M. haemolytica*)

## Scelta del piano vaccinale nell'allevamento da latte

Nella definizione di un piano vaccinale per la prevenzione delle patologie respiratorie da cause virali nella bovina da latte, va tenuta in considerazione la diffusione delle infezioni sul territorio nazionale e locale, la presenza in allevamento di problemi respiratori riconducibili a cause virali e la presenza contemporanea, in allevamento, di giovani vitelli e di bovine gravide.

Obiettivo della vaccinazione è di:

- Proteggere gli animali dall'infezione se questa non è presente in allevamento
- Controllare l'infezione, se presente, riducendone i danni correlati
- Limitare la circolazione dei patogeni, riducendo la prevalenza dell'infezione
- Procedere al controllo ed all'eradicazione della malattia

Nella pratica degli allevamenti intensivi italiani, difficilmente sono predisposti piani vaccinali, nei confronti delle infezioni virali, in assenza di infezione. Di norma si tende ad intervenire o quando si rileva la presenza dell'infezione dal punto di vista sierologico, oppure quando si rilevano problemi riconducibili alle infezioni stesse. L'obiettivo minimo da raggiungere con la vaccinazione, è quello di controllare i danni correlati alla presenza dell'infezione in allevamento. La limitazione della circolazione dei patogeni e la conseguente riduzione della prevalenza dell'infezione è raggiungibile solo attraverso la predisposizione di piani vaccinali che tengano conto della patogenesi dell'infezione. Per IBR è importante considerare la limitazione dell'insorgenza della latenza virale, soprattutto negli animali destinati alla rimonta, e per BVD la limitazione della nascita di nuovi soggetti immunotolleranti. Fondamentale, in ogni caso, è l'applicazione di misure sanitarie di profilassi diretta. Al fine di raggiungere gli obiettivi sopra esposti, il piano vaccinale suggerito terrà quindi conto: delle conoscenze relative alla patogenesi delle infezioni e del tipo di animali da vaccinare (Valla G., 2007).

## Scelta del piano vaccinale nell'allevamento da carne

La definizione di un piano vaccinale, nell'allevamento del bovino da carne, è condizionata dalle caratteristiche dell'allevamento intensivo in Italia.

Possiamo distinguere tre tipologie principali:

1. Linea vacca – vitello

2. Vitello a carne bianca
3. Vitello a carne "rossa" (vitellone)

Nel primo caso, essendo presenti bovine in attività riproduttiva, le scelte vaccinali da applicare, sono simili a quelle adottate nell'allevamento da latte. L'allevamento a carne bianca prevede la presenza di soggetti molto giovani e che rimangono in allevamento per un periodo limitato (non superiore ai 6 mesi). In questo caso potranno essere adottati i protocolli in uso nella rimonta dell'allevamento da latte. L'allevamento da carne "rossa" prevede, nella maggior parte dei casi, l'introduzione di un elevato numero di soggetti in allevamenti intensivi; soggetti provenienti o da piccoli allevamenti nazionali, o principalmente, dall'estero. Il trasporto ed il conseguente stress, sono il fattore predisponente più importante, nell'insorgere della cosiddetta "shipping fever"; questa sindrome è sostenuta da cause virali (IBR, BVD, PI3 e VRSB) e batteriche (*Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Histophilus somni*, *Mycoplasma spp.*) In quest'ultima tipologia di allevamento importante avere una adeguata attrezzatura di contenimento quale gabbia o corsia per effettuare gli interventi farmacologici aiuta ad eseguire le operazioni in sicurezza e con precisione (Valla G., 2007).

Il controllo delle infezioni batteriche può prevedere differenti approcci, oggetto di armonizzazione normativa a livello europeo per la loro applicazione:

- **Trattamento:** somministrazione di un medicamento, ad un singolo animale o a un gruppo di animali, che presentano segni clinici tipici di un'infezione microbica diagnosticata sul singolo animale o sul gruppo
- **Metafilassi:** trattamento anche di soggetti "clinicamente sani", che sono probabilmente infetti per contatto diretto con animali malati nello stesso gruppo di animali. Questi animali sono sottoposti al trattamento contestualmente agli animali malati, al fine di limitare la diffusione della malattia (Assie S. et al. 2015). In questo caso, si parla di trattamento metafilattico. In pratica, una parte del gruppo sottoposto a meta filassi, deve essere clinicamente malato prima di iniziare il trattamento
- **Prevenzione:** somministrazione di un medicamento veterinario ad animali sani allo scopo di prevenire un'infezione, nel momento in cui il rischio di contrarre l'infezione è molto elevato e le conseguenze dell'infezioni stesse possono essere considerate gravi. La profilassi non deve essere adottata in modo sistematico, ma deve essere riservata a indicazioni specifiche in casi eccezionali

(Linee guida sull'uso prudente degli antimicrobici in medicina veterinaria: [www.salute.gov.it/imgs/C\\_17\\_pubblicazioni\\_2413\\_allegato.pdf](http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pubblicazioni_2413_allegato.pdf)).

L'uso degli antibiotici dovrebbe essere sempre basato su un test di antibiotico resistenza/sensibilità effettuato dai batteri isolati dall'animale oggetto della terapia. Se ciò non è possibile, la terapia deve essere basata su informazioni anamnestiche (precedenti informazioni di sensibilità degli agenti patogeni già isolati in azienda) ed epidemiologiche locali sulla sensibilità dei batteri responsabili della malattia. Va scelto sempre l'antibiotico a spettro più stretto e con la più alta efficacia in vitro nei confronti della specifica specie batterica per minimizzare l'esposizione di popolazioni batteriche non target all'antibiotico. Ogni medicinale veterinario a base di antibiotici dovrebbe essere usato solo secondo la posologia e le modalità di somministrazione riportate nel foglietto illustrativo e limitatamente ai microrganismi indicati.

(Biosicurezza e uso corretto e razionale degli antibiotici in zootecnia: [www.salute.gov.it/imgs/C\\_17\\_pubblicazioni\\_1683\\_allegato.pdf](http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pubblicazioni_1683_allegato.pdf))

Pertanto l'utilizzo dell'antibiotico deve sempre prescindere da una corretta diagnosi eziologica, con l'ausilio del laboratorio, dalla conoscenza della farmacocinetica delle molecole scelte, da una corretta posologia e la verifica dei risultati.



## Raccomandazioni

### Diagnosi sierologica

**A VI** Per l'esame sierologico a livello di gruppo è fortemente raccomandato un approccio basato sull'applicazione di due test in serie, per massimizzare la specificità a livello del gruppo stesso

**A I** Nel caso sia necessario certificare la sieronegatività di bovini destinati alla F.A., è fortemente raccomandato verificare (tramite controllo sierologico nel primo mese di vita) che l'animale non abbia assunto colostro positivo per anticorpi

**D VI** In aziende indenni da IBR e che non vaccinano, è sconsigliata l'introduzione di capi vaccinati, ancorché indenni, in quanto ciò preclude il ricorso al latte di massa come strumento diagnostico di controllo sierologico

**A I** Il rilievo di animali diversi dal bovino (ad es. bufali, capre, selvatici) positivi per anticorpi IBR va interpretato con la massima cautela, perché spesso si è di fronte ad infezione con Herpesvirus correlati

### Diagnosi virologica

**A VI** A fronte di una sintomatologia clinica riferibile ad IBR, è fortemente raccomandata la diagnosi su tampone nasale mediante PCR, dando la precedenza nei prelievi ad animali febbrili ammalati da poco tempo

### Profilassi diretta

**A VI** Nel caso dell'acquisto di animali, è fortemente raccomandata l'introduzione da stalle esenti/aree indenni IBR con trasporto dedicato o in alternativa la quarantena degli animali all'arrivo

### Profilassi indiretta

**A VI** In presenza di anticorpi materni o nel caso di vaccinazioni d'emergenza a fronte di un focolaio diagnosticato è fortemente raccomandata la vaccinazione con vaccino vivo per via endonasale



## > BIBLIOGRAFIA CONSULTATA

## > Bibliografia

1. Aich P, Potter AA, Griebel PJ. Modern approaches to understanding stress and disease susceptibility: a review with special emphasis on respiratory disease. *Int J Gen Med* 2009;2:19–32
2. Adegboye DS, Hallbur PG, Cavanaugh DL, et al. Immunohistochemical and pathological study of *Mycoplasma bovis*-associated lung abscesses in calves. *J Vet Diagn Invest* 1995;7:333
3. Andrews GA, Kennedy GA. Respiratory diagnostic pathology. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 1997;13:515
4. Angen O, Ahrens P, Kuhnert P, Christensen H, Mutters R. (2003) Proposal of *Histophilus somni* gen. nov., sp. nov for the three species incertae sedis 'Haemophilus somnus', 'Haemophilus agni' and 'Histophilus ovis' *Int J Syst Evol Microbiol*, 53: 1449-1456
5. Ames TR (1986) The causative agent of BVD: its epidemiology and pathogenesis. *Vet Med*, 81: 848–69
6. Assie S. Métaphylaxie : quand passer du traitement individuel au traitement collectif? L'exemple des bronchopneumonies infectieuses des jeunes bovins. (2015) Journées nationales des GTV, Nantes, proceedings, 665-670)
7. Blanchard PC. Sampling techniques for the diagnosis of digestive disease. *Vet Clin North Am* 2000;16(1):23–36
8. Bureau F, Detilleux J, Dorts T, Uystepuyst C., Coghe J, Leroy P.L., Lekeux P, 2001: Spirometric performance in Belgian Blue calves: I. Effects on economic losses due to the bovine respiratory disease complex. *J Anim Sci*. May; 79(5):1301-4
9. Boyce JD, Adler B. The capsule is a virulence determinant in the pathogenesis of *Pasteurella multocida* M104 (B:2). *Infect Immun* 2000;68(6):3463–8
10. Bolin SR, McClurkin AW, Cutlip RC, (1985) Severe clinical disease induced in cattle persistently infected with non-cytopathic bovine viral diarrhea virus by super infection with cytopathic bovine viral diarrhea virus. *Am J Vet Res*, 46(3): 573–6
11. Booker CW, Abutarbush SM, Morley PS, et al. Microbiological and histopathological findings in cases of fatal bovine respiratory disease of feedlot cattle in western Canada. *Can Vet J* 2008;49:473–81
12. Bolin SR, Ridpath JF. (1992) Differences in virulence between two non-cytopathic bovine viral diarrhea viruses in calves. *Am J Vet Res*, 53(11): 2157–63

13. Boutet P, Bureau F, Degand G, et al. Imbalance between lipoxin A4 and leukotriene B4 in chronic mastitis-affected cows. *J Dairy Sci.* 2003 Nov; 86(11):3430-9
14. Brock KV, Grooms DL, Givens MD. (2005) Reproductive disease and persistent infections. In: *Bovine viral diarrhoea virus: diagnosis, management and control*, Goyal SM and Ridpath JF editors, 145–56, Blackwell Publishing, Ames, IA
15. Brodersen BW. Bovine respiratory syncytial virus. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 2010 Jul;26(2):323-33. doi: 10.1016/j.cvfa.2010.04.010
16. Brown J.F., Leite F., Czuprynski C.J., Binding of *Pasteurella haemolytica* leukotoxin to bovine leukocytes. *Infect. Immun.*, 65: 3719-3724, 1997
17. Bureau F., Detilleux J., Dorts T., Uystepuyst C., Coghe J., Leroy P.L., Lekeux P. (2001) Spirometric performance in Belgian Blue calves: I. Effects on economic losses due to the bovine respiratory disease complex. *J Anim Sci.* May; 79 (5): 1301-4
18. Caswell JL, Bateman KG, Cai HY, Castillo-Alcala F. (2010) *Mycoplasma bovis* in respiratory disease of feedlot cattle. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 26(2):365-79
19. Caswell JL, Archambault M. *Mycoplasma bovis* pneumonia in cattle. *Anim Health Res Rev* 2008;8(2):161–86
20. Cavirani S, Taddei S, Cabassi C.S, Donofrio G., Ghidini F., Flammini C. F. Risposta anticorpale verso leucotossina di manheimia (*Pasteurella*) *haemolytica* in bovini affetti da malattia respiratoria. *Large Animals Review*, Anno 11, n. 1, Febbraio 2005
21. Cavirani S. Ruolo di *Mannheimia haemolytica* nel contesto di forme respiratorie del vitello e della vacca. *Large Animal Review* 2007; 13: 221-222
22. Castleman WL, Lay JC, Dubovi EJ, et al. Experimental bovine respiratory syncytial virus infection in conventional calves: light microscopic lesions, microbiology, and studies on lavaged lung cells. *Am J Vet Res* 1985;46(3):547–53
23. Charleston B, Fray M, Baigent S, Carr BV, Morrison WI (2001) Establishment of persistent infection with non-cytopathic bovine viral diarrhoea virus in cattle is associated with a failure to induce type 1 interferon. *J Gen Virol*, 82:1893–1897
24. Chase CC, Elmowalid G, Yousif AA. (2004) The immune response to bovine viral diarrhoea virus: a constantly changing picture, *Vet Clin North Am Food Anim Pract*, 20(1): 95–114
25. Caswell JL, Williams KJ. Respiratory system. In: Maxie G, editor, *Pathology of domestic animals*, vol 2. Edinburgh (UK): Saunders; 2007. p. 523
26. Caswell JL, Archambault M. *Mycoplasma bovis* pneumonia in cattle. *Anim Health Res Rev* 2007;8:161
27. Chiapponi C, Faccini S, De Mattia A, Baioni L, Barbieri I, Rosignoli C, et al. (2016) Detection of influenza D virus among swine and cattle, Italy. *Emerg Infect Dis.* 22:352–4. <http://dx.doi.org/10.3201/eid2202.151439>
28. Clinkenbeard K.D., Clarke C.R., Morton R.J., Role of *Pasteurella haemolytica* leukotoxin in virulence and immunity in shipping fever. *Compendium*, 14: 1249-1262, 1992
29. Confer AW, McCraw RD, Durham JA, et al. Serum antibody responses of cattle to iron-regulated outer membrane proteins of *Pasteurella haemolytica* A1. *Vet Immunol Immunopathol* 1995;47:101
30. Corbeil L.B. (2007) *Histophilus somni* host-parasite relationships. *Anim Health Res Rev*, 8: 151-160
31. Collin EA, Sheng Z, Lang Y, Ma W, Hause BM, Li F. (2015). Cocirculation of two distinct genetic and antigenic lineages of proposed influenza D virus in cattle. *J Virol* 89:1036–1042
32. Czuprynski C.J., Ortiz-Carranza O., *Pasteurella haemolytica* leukotoxin inhibits mitogen-induced bovine peripheral blood mononuclear cell proliferation in vitro. *Microb. Pathog.*, 12: 459-463, 1992
33. Dabo SM, Taylor JD, Confer AW. *Pasteurella multocida* and bovine respiratory disease. *Anim Health Res Rev* 2008;8(2):129–50
34. DeRosa DC, Mechor GD, Staats JJ, et al. Comparison of *Pasteurella* spp. Simultaneously isolated from nasal and transtracheal swabs from cattle with clinical signs of bovine respiratory disease. *J Clin Microbiol* 2000;38(1):327–32
35. Ducatez MF, Pelletier C, Meyer G. (2015) Influenza D virus in cattle, France, 2011–2014. *Emerg Infect Dis.* 21:368–71. <http://dx.doi.org/10.3201/eid2102.141449>
36. Elazhary MA, Galina M, Roy RS, et al. Experimental infection of calves with bovine respiratory syncytial virus (Quebec strain). *Can J Comp Med* 1980;44(4):390–5
37. Ellis JA, West KH, Cortese VS (1998) Lesions and distribution of viral antigen following an experimental infection of young seronegative calves with virulent bovine virus diarrhoea virus-type II. *Can J Vet Res*, 62(3): 161–9
38. Evermann JF, Barrington GM, (2005) Clinical features. In: *Bovine viral diarrhoea virus: diagnosis, management and control*, Goyal SM and Ridpath JF editors, 105–20, Blackwell Publishing, Ames, IA
39. Ferguson L, Eckard L, Epperson WB, Long LP, Smith D, Huston C, Genova S, Webby R, Wan XF. (2015) Influenza D virus infection in Mississippi beef cattle. *Virology* 486:28–34
40. Fuller TE, Kennedy MJ, Lowery DE. Identification of *Pasteurella multocida* virulence genes in septicemic mouse model using signature-tagged mutagenesis. *Microb*

- Pathog 2000;29:25–38
41. Galmozzi G., Muraro M., Vandoni S., Bonfanti M., Faccini S., Rosignoli C., Sgoifo Rosi C.A., (2009), Schemi di intervento nelle forme respiratorie dei bovini da ristallo. *Large Animal Review*, 15: 257-266
  42. Gay E., Barnouin J., 2009: A nation-wide epidemiological study of acute bovine respiratory disease in France. *Preventive Veterinary medicine*. 89:265-271
  43. Godinho KS, Sarasola P, Renoult E, et al. Use of deep nasopharyngeal swabs as a predictive diagnostic method for natural respiratory infections in calves. *Vet Rec* 2007;160:22–5
  44. Grinberg A., Khatib N., Kosak A. (1993) Chronic mastitis caused by *Haemophilus somnus* in dairy cow. *Can Vet J*, 34: 236-237
  45. Grooms DL. (2004) Reproductive consequences of infection with bovine viral diarrhoea virus. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*, 20(1): 5–19
  46. Guichon P.T., Pritchard J., Jim G.K. (1988) *Haemophilus somnus* myocarditis in a feedlot steer. *Can Vet J*, 29: 1012-1013
  47. Gunn GJ, Saatkamp HW, Humphry RW, Stott AW (2005) Assessing economic and social pressure for the control of bovine viral diarrhoea virus. *Prev Vet Med*, 71:149–162
  48. Haines DM, Martin KM, Clark EG, et al. The immunohistochemical detection of *Mycoplasma bovis* and bovine viral diarrhoea virus in tissues of feedlot cattle with chronic, unresponsive respiratory disease and/or arthritis. *Can Vet J* 2001;42:857
  49. Hause BM, Ducatez M, Collin EA, Ran Z, Liu R, Sheng Z, Armien A, Kaplan B, Chakravarty S, Hoppe AD, Webby RJ, Simonson RR, Li F. (2013) Isolation of a novel swine influenza virus from Oklahoma in 2011 which is distantly related to human influenza C viruses. *PLoS Pathog* 9:e1003176. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.1003176>
  50. Hause BM, Collin EA, Liu R, Huang B, Sheng Z, Lu W, Wang D, Nelson EA, Li F. (2014). Characterization of a novel influenza virus in cattle and swine: proposal for a new genus in the Orthomyxoviridae family. *mBio* 5:e00031-00014. <http://dx.doi.org/10.1128/mBio.00031-14>
  51. Hamers C, Couvreur B, Dehan P, (2000) Differences in experimental virulence of bovine viral diarrhoea viral strains isolated from haemorrhagic syndromes. *Vet J*, 160(3): 250–8
  52. Harper M, Boyce J, Adler B. *Pasteurella multocida* pathogenesis: 125 years after Pasteur. *FEMS Microbiol Lett* 2006;265:1–10
  53. Harris F.W., Janzen E.D. (1989) The *Haemophilus somnus* disease complex (Hemophilosis): a review. *Can Vet J*, 30: 816-822
  54. Higgins R., Martin J.R, Larouche Y., Goyette G. (1987) Mastitis caused by *Haemophilus somnus* in dairy cow. *Can Vet J*, 28: 117-119
  55. Houe H (1999) Epidemiological features and economical importance of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infections. *Vet Microbiol*, 64:89–107
  56. Houe H. (1995) Epidemiology of bovine viral diarrhoea virus. *Vet Clin N Am-Food An Prac*, 11: 521–547
  57. Jiang WM, Wang SC, Peng C, Yu JM, Zhuang QY, Hou GY, et al. (2014) Identification of a potential novel type of influenza virus in bovine in China. *Virus Genes*. 49:493–6 <http://dx.doi.org/10.1007/s11262-014-1107-3>
  58. Kahrs RF. Infectious bovine rhinotracheitis: a review and update. *J Am Vet Med Assoc*. 1977 Nov 15;171(10):1055-64
  59. Katsuda K, Kamiyama M, Kohmoto M, et al. Serotyping of *Mannheimia haemolytica* isolates from bovine pneumonia: 1987–2006. *Vet J* 2008;178:146–8
  60. Kimman TG, Straver PJ, Zimmer GM. Pathogenesis of naturally acquired bovine respiratory syncytial virus infection in calves: morphologic and serologic findings. *Am J Vet Res* 1989;50(5):684–93
  61. Kreplin C. (1991) Suppurative orchitis associated with *Haemophilus somnus* in a calf. *Can Vet J*, 32: 567
  62. Leite F., Kuckleburg C., Atapattu D., Schultz R., Czuprynski C.J. BHV-1 infection and inflammatory cytokines amplify the interaction of *Mannheimia haemolytica* leukotoxin with bovine peripheral blood mononuclear cells in vitro. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 99: 193-202, 2004
  63. Lehmkuhl HD, Gough PM. Investigation of causative agents of bovine respiratory tract disease in a beef cow-calf herd with an early weaning program. *Am J Vet Res* 1977;38(11):1717–20
  64. Lekeux P., Coghe J., 2007: Strategia terapeutica per il trattamento del complesso della malattia respiratoria del bovino: l'esperienza belga. *Large Animal Review*. 13:229-232.
  65. Lekeux P., 1993: Pulmonary function as a potential limiting factor for health, production and performance. In: Lekeux P (ed): *Pulmonary Function in Healthy, Exercising and Diseased Animals*. Ghent, Belgium, VDT Publications, 1993, pp 1-14
  66. Liebler-Tenorio EM, Ridpath JE, Neill JD, (2002) Distribution of viral antigen and development of lesions after experimental infection with highly virulent bovine viral diarrhoea virus type 2 in calves. *Am J Vet Res*, 63(11): 1575–84

67. Liebler-Tenorio EM, Ridpath JF, Neill JD, (2003) Lesions and tissue distribution of viral antigen in severe acute versus subclinical acute infection with BVDV2. *Biologicals*, 31(2): 119–22
68. Liebler-Tenorio EM, Ridpath JE, Neill JD, (2004) Distribution of viral antigen and tissue lesions in persistent and acute infection with the homologous strain of non-cytopathic bovine viral diarrhea virus, *J Vet Diagn Invest*, 16(5): 388–96
69. Loneragan GH, Gould DH, Mason GL, et al. Involvement of microbial respiratory pathogens in acute interstitial pneumonia in feedlot cattle. *Am J Vet Res* 2001; 62(10):1519–24
70. Lopez A, Yong S, Shewen P. Effect of intratracheal inoculation of *Pasteurella haemolytica* cytotoxin on the integrity of rat lung. *Can J Vet Res* 1987; 51:533
71. Mariassy AT, Plopper CG, Dungworth DL. Characteristics of bovine lung as observed by scanning electron microscopy. *Anat Rec* 1975;183(1):13–25
72. Maunsell FP, Woolums AR, Francoz D, Rosenbusch RF, Step DL, Wilson DJ, Janzen ED (2011). *Mycoplasma bovis* infections in cattle. *J Vet Intern Med*. 25(4):772-83
73. Mc Ewen A.S., Hulland J.T. (1985) *Haemophilus somnus*-induced otitis and meningitis in a heifer. *Can Vet J*, 26: 7-8
74. Metzler AE, Matile H, Gasman U, et al. European isolates of bovine herpesvirus 1: a comparison of restriction endonuclease sites, polypeptides and reactivity with monoclonal antibodies. *Arch Virol* 1985;85:57–69
75. Mike A. Taylor, Robert L. Coop, Richard L. Wall, *Parassitologia e malattie parassitarie degli animali 2010*
76. Mitra M., Cernicchiaro N., Torres S., Li F., Hause B.M. (2016) Metagenomic characterization of the virome associated with bovine respiratory disease in feedlot cattle identified novel viruses and suggests an etiologic role for influenza D virus. *J. Gen. Virol.* 2016 May 5. doi: 10.1099/jgv.0.000492
77. Mohanty SB, Ingling AL, Lillie MG. Experimentally induced respiratory syncytial viral infection in calves. *Am J Vet Res* 1975;36(4 Pt1):417–9
78. Mottaran D., Schiavon E., Valla G. "Valutazione economica del trattamento antibiotico all'interno di protocolli di condizionamento sanitario nei confronti della patologia respiratoria (BRD) nell'allevamento del bovino da carne". *Large Animal Review*. 2016; 22: 3-9
79. Murakami S, Endoh M, Kobayashi T, Takenaka-Uema A, Chambers JK, Uchida K, Nishihara M, Hause B, Horimoto T. (2016) Influenza D infection in herd of cattle, Japan. *Emerg Infect Dis*. 22(8):1517-9. doi: 10.3201/eid2208.160362
80. Muraro M., Solari Basano F., Nazzari R., Franzini G., (2008), *Efficacia della Tulatromicina nella prevenzione delle forme respiratorie del bovino (BRD) da ingrasso in Italia*. *Large Animal Review*, 14: 267-272
81. Orr J. P. (1992) *Haemophilus somnus* infection: a retrospective analysis of cattle necropsied at the Western College of Veterinary Medicine from 1970 to 1990. *Can Vet J*, 33: 719-722
82. Paccaud MF, Jacquier CL. A respiratory syncytial virus of bovine origin. *Arch Gesamte Virusforsch* 1970;30:327–42
83. Panciera RJ, Confer AW. Pathogenesis and pathology of bovine pneumonia. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*. 2010 Jul; 26(2):191-214
84. Prado ME, Prado TM, Payton M, et al. Maternally and naturally acquired antibodies to *Mannheimia haemolytica* and *Pasteurella multocida* in beef calves. *Vet Immunol Immunopathol* 2006;111:301–7
85. Poli G., Dall'Ara P., Martino P. A. 2017 "Microbiologia e immunologia veterinaria" Edra
86. Potgieter LN. (1997) Bovine respiratory tract disease caused by bovine viral diarrhea virus. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*, 13(3): 471–81
87. Rampin F., Schiavon E., Gobbo F., Iob L. (2010). BRD survey in north-east Italian beef cattle farms. XXVI World Buiatrics Congress. Santiago, Chile
88. Radostits O.M., Gay C.C., Hinchcliff K.W., Constable P.D., 2007: *Veterinary Medicine. A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats*. 10th edition. Saunders Elsevier. 10:508-515. 11:565-570. 13:642-648. 14: 670-671
89. Radostits O.M., Gay C.C., Hinchcliff K.W., Constable P.D. (2007) *Veterinary Medicine*. 10th ed., Saunders Elsevier, London, UK, pp. 998-1003
90. - Rice JA, Carrasco-Medina L, Hodgins DC, et al. *Mannheimia haemolytica* and bovine respiratory disease. *Anim Health Res Rev* 2007;8:117
91. - Ridpath J. (2010) The Contribution of Infections with Bovine Viral Diarrhea Viruses to Bovine Respiratory Disease. *Vet Clin Food Anim*, 26: 335–348
92. - Ridpath JF, Neill JD, Peterhans E. (2007) Impact of variation in acute virulence of BVDV1 strains on design of better vaccine efficacy challenge models, *Vaccine*, 25(47): 8058–66
93. - Romero F.A. (2005) *Histophilus somni* (*Haemophilus somnus*) isolated from dairy cattle with reproductive disorders. First report in Mexico. *Téc Pecu Méx*, 43: 185-195
94. Ruby K.W., Griffith R.W., Kaeberle M.L. (2002) Histamine production by *Haemophilus somnus*. *Comp Immun Microbiol Infect Dis*, 25: 13-20
95. Rodriguez F, Bryson DG, Ball HJ, et al. Pathological and immunohistochemical stu-

- dies of natural and experimental *Mycoplasma bovis* pneumonia in calves. *J Comp Pathol* 1996;115:151
96. Rosenquist BD. Isolation of respiratory syncytial virus from calves with acute respiratory disease. *J Infect Dis* 1974;130:177–82
  97. Saif LJ. Bovine respiratory coronavirus. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 2010 Jul;26(2):349-64. doi: 10.1016/j.cvfa.2010.04.005. Review
  98. Saif LJ. Coronaviruses of domestic livestock and poultry: interspecies transmission, pathogenesis and immunity. In: Perlman S, Gallagher T, Snijder E, editors, *The nidoviruses*, vol. 18. Washington, DC: ASM; 2007. p. 279–98
  99. Siddaramppa S., Inzana TJ. (2004) *Haemophilus somnus* virulence factors and resistance to host immunity. *Anim Health Res Rev*, 5: 79-93
  100. Sgoifo Rossi C.A., Compiani R., Baldi G., Bonfanti M. Individuazione e valutazione dei fattori di rischio per la BRD nel bovino da carne da ristallo. (2013) *Large Animal Review*; 19: 65-72
  101. Smith MH, Frey ML, Dierks RE. Isolation, characterization, and pathogenicity studies of a bovine respiratory syncytial virus. *Arch Virol* 1975;47:237–47
  102. Smith MH, Frey ML, Dierks RE. Isolation and characterization of a bovine respiratory syncytial virus. *Vet Rec* 1974;94(25):599
  103. Stanton AL, Kelton DF, LeBlanc SJ, Wormuth J, Leslie KE. The effect of respiratory disease and a preventative antibiotic treatment on growth, survival, age at first calving, and milk production of dairy heifers. *J Dairy Sci.* 2012 Sep;95(9):4950-60. doi: 10.3168/jds.2011-5067
  104. Thumbikat P, Dileepan T, Kannan MS et al. Mechanisms underlying *Mannheimia haemolytica* leukotoxin-induced oncosis and apoptosis of bovine alveolar macrophages. *Microb Pathog.* 2005 Apr; 38(4):161-72
  105. Turin L, Russo S, Poli G. BHV-1: new molecular approaches to control a common and widespread infection. *Mol Med* 1999;5:261–84
  106. Van Oirschot JT. Bovine herpesvirus in semen of bulls and the risk of transmission: a brief overview. *Vet Q* 1995;17:29–33
  107. Viet HP, Ferrell RL. The anatomy and physiology of the bovine respiratory system relating to pulmonary disease. *Cornell Vet* 1978;68(4):555–81
  108. Wellemans G, Leunen J, Luchsinger E. Respiratory ailments of cattle: isolation of a virus (220/69) with serologic resemblance to the human respiratory syncytial virus. *Ann Med Vet* 1970;114:89–93
  109. Wessels J., Wessels M.E. (2005) *Histophilus somni* myocarditis in a beef rearing calf in the United Kingdom. *Vet Rec*, 157: 420-421
  110. Woolums AR, Mason GL, Hawkins LL, et al. Microbiologic findings in feedlot cattle with acute interstitial pneumonia. *Am J Vet Res* 2004;65:1525
  111. Woolums ARL, Gould DH, McAllister TA. Etiology of acute interstitial pneumonia in feedlot cattle: noninfectious causes. *Compend Cont Educ Pract Vet* 2001;23:S86
  112. Yates WD. A review of infectious bovine rhinotracheitis, shipping fever pneumonia, and viral-bacterial synergism in respiratory disease of cattle. *Can J Comp Med* 1982;46:225–63
  113. Zecchinon L, Fett T, Desmecht D. How *Mannheimia haemolytica* defeats host defence through a kiss of death mechanism. *Vet Res.* 2005 Mar-Apr; 36(2):133-56



Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie  
Viale dell'Università, 10 - 35020 Legnaro (Pd)  
Tel. +39 049 8084211

[comunicazione@izsvenezie.it](mailto:comunicazione@izsvenezie.it)  
[www.izsvenezie.it](http://www.izsvenezie.it)  
Facebook: [www.facebook.com/izsvenezie](http://www.facebook.com/izsvenezie)