

PARATUBERCOLOSI E ALIMENTI DI ORIGINE ANIMALE

PARATUBERCULOSIS AND FOOD OF ANIMAL ORIGIN

Sarno E., Sarli T.A.

Dipartimento di Scienze Zootecniche e Ispezione degli alimenti – Università di Napoli

SUMMARY

Mycobacterium avium ssp. *paratuberculosis* (MAP) is the causative agent of Johne's disease (or paratuberculosis), a chronic infectious enteritis in cattle, sheep and goats. Infected animals shed viable MAP in their milk, faeces and semen. MAP may have a role in development of Crohn's disease, a chronic inflammatory bowel disease in humans, via the consumption of contaminated milk and milk products, meat and contaminated water supplies. For some authors pasteurization is not sufficient to kill all MAP cells present in milk and it has been cultured from raw or pasteurized milk and isolated from cheese. MAP has not isolated from retail beef to date, although limited testing has been carried out. Probably MAP may be involved in other chronic diseases like Type-1 Diabetes. Which is the possible public health consequence of periodically use by susceptible individuals is uncertain.

Keywords

Map, Crohn's disease, food

INTRODUZIONE

Mycobacterium avium subsp. *paratuberculosis* (MAP) è l'agente eziologico responsabile della paratubercolosi, malattia infettiva, contagiosa ed endemica che interessa i ruminanti domestici, selvatici ed anche i primati e determinante un'enterite cronico-granulomatosa. Studiata e descritta per la prima volta nel 1895 da Johne e Frothingham, è nota anche come malattia di Johne (Johne's Disease). La paratubercolosi rappresenta una delle malattie infettive più importanti sia per l'ampia diffusione sia per i danni arrecati agli allevamenti bovini, dove il tipo di allevamento, le carenze di tipo igienico, le spinte produttive e la commercializzazione di animali hanno favorito, negli ultimi anni, la diffusione dell'infezione e l'aumento dell'incidenza della malattia.

MAP è un microrganismo asporigeno, privo di capsula, acido resistente, con forma bastoncellare. È dotato di elevata resistenza nell'ambiente esterno, replica solo all'interno di macrofagi e cellule giganti.

Epidemiologia - La paratubercolosi è una malattia tipica, ma non esclusiva dei ruminanti, in quanto altre specie animali non ruminanti sono recettive all'infezione naturale e sperimentale. La principale via di trasmissione è quella oro-fecale. L'ospite si infetta tramite l'ingestione di alimenti contaminati, il micobatterio colonizza il sistema digerente e viene eliminato con le feci. Esistono altre modalità di escrezione: quella attraverso il latte (bovini ad alta produzione) e quella attraverso il seme (1). La recettività all'infezione è massima nel vitello e diminuisce con l'aumentare dell'età. Presumibilmente l'eliminazione nel latte avviene attraverso la via linfatica ed ematogena (2). La mancanza di una tecnica altamente sensibile non permette di deter-

minare il numero di microrganismi nel latte naturalmente contaminato.

Decorso e sintomi della malattia - Una volta ingerito, MAP viene fagocitato dai macrofagi e va a replicare a livello della mucosa intestinale. Dal punto di vista isto-morfologico, in loco si rende responsabile di una enterocolite granulomatosa cronica mentre il quadro macroscopico mostra ispessimento e corrugamento della mucosa intestinale, linfangite e linfoadenopatia regionale, principalmente nelle parti terminali dell'ileo, ma anche nel colon, digiuno e duodeno. Infatti MAP può guadagnare attraverso la mucosa intestinale, la via linfatica e quindi portarsi ai linfonodi regionali e occasionalmente ad altri organi. A lungo andare l'ispessimento della parete che deriva dall'infezione porta ad una riduzione nell'assorbimento dei nutrienti. Dal punto di vista clinico si osservano: diarrea intermittente, cronica e dimagrimento progressivo fino alla morte. Si riconoscono in genere due forme l'una sintomatica e l'altra asintomatica che rappresenta la forma più temibile in quanto gli animali, nonostante non mostrino segni evidenti della malattia, sono vettori che continuamente eliminano MAP nell'ambiente esterno inquinandolo e potenzialmente infettando altri soggetti presenti in allevamento. Il microrganismo è stato inoltre isolato dal tessuto mammario, linfonodi mammari di soggetti clinicamente infetti. Da linfonodi mammari, latte e colostro per quelli asintomatici.(3)

MAP ed il Morbo di Crohn - MAP è stato identificato in campioni di intestino di pazienti affetti da morbo di Crohn, malattia infiammatoria ad eziologia multifattoriale che interessa individui giovani (in media 15-25 anni), suggerendo così una correlazione tra il microrganismo e la malattia (4); le due patologie infatti sono accomunate dai medesimi sintomi (compromissione generale, dolore addominale, diarrea cronica e dimagrimento causata dall'ileite (5). Nonostante non si abbiano certezze sulle cause iniziali della malattia, oggi sappiamo che fattori ambientali e fattori genetici sono comunque importanti. La ricerca della base genetica è molto attiva ed oggi il gene più implicato è il NOD2 situato sul cromosoma 16. Una mutazione del gene determina un'alterazione nella capacità del sistema immunitario intestinale di reagire in modo appropriato alla presenza dei batteri che colonizzano l'intestino. Tuttavia solo il 30% dei pazienti affetti da morbo di Crohn presenta la mutazione NOD2, ad indicare che la spiegazione del ruolo svolto dalla genetica è complessa e che i geni coinvolti sono probabilmente molteplici. Questa ipotesi è in accordo con precedenti studi presenti in letteratura(6).

Map e diabete tipo I - Da una ricerca compiuta in Sardegna è emerso che "a seconda della predisposizione genetica dei pazienti, una persona incontrando MAP, sviluppa il diabete, un'altra l'intestino irritabile e un'altra ancora il Crohn. Nei diabetici in cui non c'è MAP i responsabili sono probabilmente altri patogeni intestinali". Dalla sperimentazione è emersa la presenza di DNA ed anticorpi anti-MAP nel sangue di pazienti affetti da Diabete tipo I. La ricerca, attribuendo la stessa origine al Crohn e al diabete, apre dunque la speranza di trovare nuovi metodi per controllare questo tipo di diabete che colpisce soprattutto i più giovani(7).

Map e gli alimenti -Il passaggio dall'animale all'uomo può avvenire attraverso:il latte crudo; latte trattato con calore; attraverso la carne considerando che MAP, mediante il circolo può giungere a livello di organi secondari come linfonodi, sangue e soprattutto muscolo; acqua proveniente da corsi naturali presenti nelle aree dove gli animali infetti pascolano, anch'essa può potenzialmente essere un veicolo.

Latte - Il latte può essere contaminato direttamente dalla mammella o indirettamente attraverso le feci. L'eliminazione di MAP attraverso il latte è più bassa rispetto a quella con le feci che ammonta a concentrazioni di 10^8 UFC/g e contribuirebbe in maniera significativa alla contaminazione del latte crudo (8). L'efficacia dei trattamenti di pastorizzazione come mezzo di bonifica, è stata più volte testata. I risultati spesso contraddittori riportati in letteratura a questo proposito dipendono, oltre che dall'accuratezza, dalla sensibilità e dalla specificità delle metodiche analitiche usate nei diversi esperimenti, soprattutto dal fatto che i pastorizzatori usati a livello sperimentale non simulano correttamente le condizioni che si vengono a creare nelle unità di pastorizzazione industriali. Altra considerazione da farsi nella valutazione di dati prettamente sperimentali, è che la sopravvivenza del batterio è stata valutata contaminando dei campioni con inoculi batterici a titolo noto, titolo scelto però, senza un preciso riferimento ai livelli di contaminazione del latte in stalla, a causa dei pochi dati disponibili. Oltre al latte alimentare anche quello destinato all'infanzia è stato oggetto di studio mostrando una percentuale di positività pari quasi al 50% utilizzando la metodica nested PCR(9). Non bisogna dimenticare che MAP può infettare anche gli ovicaprini e quindi rinvenirsi nel loro latte. Il suo DNA è stato infatti ritrovato, mediante PCR specifica per la sequenza IS900, nel latte crudo di caprini nel Regno Unito (positività 1.1%) (10). Anche il latte di pecora è stato studiato. In Svizzera il 23.8% dei campioni testati

mediante PCR sono risultati positivi (11).

Carne - La malattia di Johne interessa sia bovini da latte che quelli da macello quindi la possibilità che la carne sia una via di esposizione di MAP all'uomo è più che plausibile tanto che nello stadio avanzato della malattia MAP può diffondere nel sangue ai linfonodi ed anche ai muscoli. In una indagine condotta su bovini da latte e da carne negli USA, MAP è stato isolato da culture di intestino (feci e linfonodi ileocecali) del 34% dei bovini da latte e 3 % di bovini da carne e nel fegato e altri linfonodi, nell'11 % dei bovini da latte e 0.7% di bovini da carne (12). Sebbene MAP sia stato isolato da vari organi nessuno studio ha riportato, per lo meno negli USA, la presenza del micobatterio in carne macinata (13).

Formaggio - Gli studi riportati in letteratura riguardo la presenza di MAP in prodotti come i formaggi sono ancora pochi. Tuttavia sono state condotte ricerche riguardo la prevalenza di MAP in formaggi svizzeri ottenuti da latte crudo. Sono stati esaminati 143 campioni di formaggio di cui 9 a pasta molle, 133 a pasta semidura e 1 a pasta dura. Il risultato dell'indagine è stata la messa in evidenza di

materiale genetico del microrganismo nel 4.2% dei campioni che analizzati sono risultati positivi alla real-time PCR (14).

Acqua - Studi condotti sulla decontaminazione hanno concluso che il trattamento con 2.0 mg/mL di cloro per 30 min è la soluzione più efficace per un'inattivazione di MAP nei campioni di acqua con diminuzione pari a 2.35–2.82 Log purché la contaminazione iniziale non sia elevata (>106 cfu/mL). Il solo impiego di cloro non è probabilmente sufficiente per questo vanno associati altri trattamenti che necessitano di ulteriori studi per essere confermati(15). Alla luce di quanto esposto appare chiaro come i metodi di rilevazione debbano essere incrementati e standardizzati a livello internazionale. Inoltre le possibili correlazioni tra MAP e malattie quali il morbo di Crohn e il diabete mellito devono essere chiarite anche se, in assenza di metodi efficaci e di modelli animali, per molti autori sarà difficile provare tale correlazione in un futuro prossimo. In fine la possibile resistenza alla pastorizzazione rende necessari studi approfonditi sulla capacità di resistenza del batterio sia nel latte alimentare sia in prodotti lattiero caseari.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Ayele W.Y., Bartos M., Svastova P., Pavlik I. (2004). Distribution of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in organs of naturally infected bull-calves and breeding bulls. *Veterinary Microbiology*, 103, 209–217.
- 2) Slana I., Paolicchi F., Janstova B., Navratilova P., Pavlik I. (2008). Detection methods for *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in milk and milk products: a review. *Veterinary Medicine*, 53, 2008 (6): 283–306
- 3) Streeter R.N., Hoffsis G.F., Bech-Nielsen S., Shulaw W.P., Rings D.M. (1995). Isolation of *Mycobacterium paratuberculosis* from colostrum and milk of subclinically infected cows. *American Journal of Veterinary Research*, 56, 1322–1324.
- 4) Chiodini R.J. (1989). Crohn's disease and the mycobacterioses: a review and comparison of two disease entities. *Clinical Microbiology Reviews* 2 90–117.
- 5) Greenstein R.J. (2003). Is Crohn's disease caused by a mycobacterium? Comparisons with leprosy, tuberculosis, and Johne's disease. *Lancet Infectious Diseases* 3 507–514.
- 6) Elguezabal N., Pavón A., Garrido J.M., Geijo M.V., Sevilla I., Tejada A., Ochotorena I., Izeta A., Aduriz G., Juste R.A. (2005) High frequency of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* DNA in blood of Inflammatory Bowel Disease patients and controls detected by nested PCR. Eighth International Colloquium on Paratuberculosis Copenhagen, Denmark: August 14-17.
- 7) Sechi L.A., Rosu V., Paccagnini D., Salza S., Pacifico A., Ahmed N., Zanetti A. (2008). Association of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* with Type-1 diabetes, a possible trigger. *Clinical Infectious Diseases* 2008;46:148–149
- 8) Cocito C., Gilot P., Coene M., De Kesel M., Poupart P., Vannuffel P. (1994). Paratuberculosis. *Clin. Microbiol. Rev.* 7:328–345.
- 9) Hruska K., Bartos M., Kralik P., Pavlik I. (2005). *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in powdered infant milk. Eighth International Colloquium on Paratuberculosis Copenhagen, Denmark: August 14-17,
- 10) Grant I.R., O'Riordan L.M., Ball H.J., Rowe M. T. (2001). Incidence of *Mycobacterium paratuberculosis* in raw sheep and goats' milk in England, Wales and Northern Ireland. *Veterinary Microbiology* 79 123–131.
- 11) Muehlherr J.E., Zweifel C., Corti S., Blanco J. E., Stephan R. (2003) Microbiological quality of raw goat's

and ewe's bulk-tank milk in Switzerland. *Journal of Dairy Science* 86 3849–3856.

12) Rossiter C.J., Henning W.R.(2001). Isolation of *Mycobacterium paratuberculosis* from thin market cows at slaughter. *Journal of Animal Science* 79 113.

13) Grant I.R. (2005) Zoonotic potential of *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis*: the current position. *Journal of Applied Microbiology* ;98;1282-1293.

14) Stephan R., Schumacher S., Tasara T., Grant I.R. (2007). Prevalence of *Mycobacterium avium* Subspecies *paratuberculosis* in Swiss Raw Milk Cheeses Collected at the Retail Level *J. Dairy Sci.* 90:3590–3595.2007-0015 American Dairy Science Association.

15) Whan L., Grant I.R., Ball H. J., Scott R. Rowe M.T. (2001). Bactericidal effect of chlorine on *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in drinking water. *Letters in Applied Microbiology* 33 227–231.