

APPUNTO BRUCELLI a cura della DG Legislativa

OGGETTO: Delibera di Giunta regionale n. 104 dell'8 marzo 2022 "Approvazione del <Programma obbligatorio di eradicazione delle malattie infettive della specie bovina e bufalina in Regione Campania>".

Con delibera n. 104 dell'8/3/2022, la Giunta regionale ha approvato il programma in oggetto, redatto dal gruppo di lavoro costituito ai sensi dell'art. 36 della L.R. n. 5/2021, il quale dispone una serie di misure con l'obiettivo di eradicare le malattie infettive della specie bovina e bufalina in regione Campania.

Si segnalano taluni aspetti di criticità riferiti sia allo strumento adottato per l'approvazione del piano (Delibera di Giunta regionale), sia ai contenuti del programma,

In ordine al primo aspetto non può non evidenziarsi che Programma regionale non si limita a disporre le sole misure sanitarie propedeutiche alla eradicazione delle malattie infettive della specie bovina e bufalina, ma incide notevolmente sul comparto agri-zootecnico (cfr. All.ti B, D, E ove si stabiliscono i parametri aziendali strutturali; Piano di Sviluppo Rurale e la previsione di spesa di circa 100 milioni per l'adeguamento), assumendo la caratteristica di un vero e proprio documento di programmazione, da sottoporre all'approvazione del Consiglio regionale.

Difatti, ai sensi dell'art. 26, comma 1, dello Statuto, *"il Consiglio regionale ... Determina l'indirizzo politico generale **esercitando le funzioni** legislative e di controllo sull'attività dell'amministrazione regionale, nonché **di programmazione** secondo quanto stabilito dallo Statuto e dalle leggi"*.

Inoltre, non può disconoscersi che, per la complessità degli aspetti che contempla e già sopra evidenziati, il suddetto Programma potrebbe qualificarsi alla stregua di un "Piano sanitario regionale" soggiacente alla disciplina della L.R. n. 32/1994. E in effetti, ai sensi dell'art. 30, commi 1 e 2, della L.R. n.32 *"il piano sanitario regionale è lo strumento di programmazione complessiva di settore con il quale il Consiglio Regionale [...] nell'ambito della programmazione regionale e delle relative politiche generali di bilancio, definisce gli obiettivi e le linee di governo del servizio sanitario regionale. ... omissis .... 2. Il piano sanitario regionale ha durata triennale ed è approvato dal Consiglio Regionale su proposta della Giunta Regionale"*.

Un altro profilo di criticità è relativo all'iter di approvazione della DGR n. 104, avuto riguardo a quanto dispone l'articolo 31 del Regolamento UE del Parlamento Europeo e del Consiglio n. 2016/429 - entrato in vigore il 21.04.2021, *"relativo alle malattie animali trasmissibili e che modifica e abroga taluni atti in materia di sanità animale"*, in attuazione del quale è stato predisposto il Programma.

Infatti, il citato art. 31 prevede che:

*"Gli Stati membri che non sono indenni o non sono notoriamente indenni da una o più delle malattie elencate di cui all'articolo 9, paragrafo 1, lettera b), in tutto il loro territorio o in zone o compartimenti dello stesso:*

*a) istituiscono un programma di eradicazione o comprovante l'indennità da tale malattia elencata, da attuare nelle popolazioni animali interessate da tale malattia e riguardante le parti del loro territorio o le zone o i compartimenti interessati del medesimo («programma obbligatorio di eradicazione»), che deve essere applicato finché non siano soddisfatte le condizioni per la concessione del riconoscimento dello status di indenne da malattia del territorio o di una zona dello Stato membro interessato, conformemente all'articolo 36, paragrafo 1, o di un compartimento, conformemente all'articolo 37, paragrafo 2;*

*b) presentano il progetto di programma obbligatorio di eradicazione alla Commissione per approvazione"*.

Con la delibera 104 la Giunta ha subordinato esclusivamente “...l'avvio della vaccinazione con il ceppo RB51 nei comuni cluster d'infezione per brucellosi al pronunciamento favorevole della UE”, mentre il Programma obbligatorio andava preventivamente presentato alla commissione UE, affinché la stessa – ricorrendone i presupposti, lo autorizzasse.

Pertanto, il Programma obbligatorio in esame avrebbe dovuto essere preventivamente presentato alla Commissione UE per la sua approvazione nella sua interezza, senza, dunque, limitare al parere favorevole della UE la sola operatività del Piano vaccinale in esso contenuto.

Né, peraltro, sembra trovare applicazione la disposizione di cui al comma 5, lett. b) del medesimo art. 31 cit. secondo il quale “La Commissione adotta atti delegati conformemente all'articolo 264 per quanto riguarda: (...) b) le deroghe alla prescrizione di presentare per approvazione i programmi di eradicazione, in conformità al paragrafo 1, lettera b), del presente articolo e al paragrafo 2 del presente articolo, qualora tale approvazione non sia necessaria giacché sono state adottate norme riguardanti tali programmi conformemente all'articolo 32, paragrafo 2, e all'articolo 35”, dal momento che non risulta che siano stati adottati atti delegati in materia.

Nel merito del programma si segnalano le seguenti criticità.

La *Parte generale* del Programma, al punto A definisce “**caso confermato**”:

“1. Nelle zone della Regione Campania **non indenni** e negli stabilimenti **presenti nelle aree cluster d'infezione**:

La positività alle prove (SAR e FDC) definisce un caso confermato, con conseguente ritiro della qualifica sanitaria. Nei focolai già confermati anche il riscontro alla singola positività al test di screening (SAR), individua l'animale come animale infetto.

2. Nelle zone della Regione Campania **non indenni**, e negli stabilimenti **non presenti nelle aree cluster**:

La positività, ad almeno un'altra prova tra quelle elencate nell'Allegato III del Reg. Del. (UE) 2020/689, oltre SAR e FdC, qualora non venga riscontrato linking epidemiologico, definisce un caso confermato.

3. Zone della Regione Campania **indenni**:

Per la definizione di caso confermato si rimanda all'art.9 comma 2 del Reg. Del. (UE) 689/2020, con apertura focolaio e conseguente ritiro della qualifica sanitaria.

Per i punti 2 e 3 le prove da effettuare per confermare l'infezione risultano strumenti a supporto dell'indagine epidemiologica, ed in quanto tali, da concordare con l'OEV”.

Inoltre, il “**caso sospetto**” è così identificato:

“Nelle zone della Regione Campania **non indenni** e negli stabilimenti **non presenti nelle aree cluster** i capi **positivi/dubbi** alle prove in vita (SAR e FDC), devono comunque **essere isolati in attesa dell'invio al macello** della Regione Campania entro 15 gg dall'esito delle prove; tali capi infatti, sospetti di infezione, devono essere sottoposti a prelievo d'organo per l'esecuzione delle prove diagnostiche di laboratorio atte a confermare la malattia (PCR e batteriologico).

I capi risultati **positivi alla sola prova SAR in stabilimenti indenni situati in aree cluster**, vengono **considerati sospetti, abbattuti e la qualifica dell'azienda viene sospesa**, in attesa di prove suppletive da effettuare in accordo con l'OEV e rientranti nella corretta indagine epidemiologica.

**Nelle zone Indenni** della Regione Campania i capi risultati **SAR positivi e FDC negativi**, devono essere ritestati nuovamente. La qualifica viene in ogni caso sospesa.

La reiterata positività alla prova SAR va valutata con indagini suppletive con l'OEV”.

Le suddette definizioni di **caso confermato** e di **caso sospetto di BRC** risultano in contrasto con quelle

contenute all'art. 9 del richiamato Regolamento UE n. 689/2020, ai sensi del quale:

*"1. L'autorità competente classifica un animale o un gruppo di animali come un caso sospetto di una malattia elencata o*

- *di una malattia emergente quando:*
- *a) gli esami clinici, post mortem o di laboratorio concludono che i segni clinici, le lesioni post mortem o i risultati istologici sono indicativi della presenza di tale malattia;*
- *b) i risultati ottenuti utilizzando un metodo diagnostico indicano la probabile presenza della malattia in un campione prelevato da un animale o da un gruppo di animali; oppure*
- *c) è stata stabilita una connessione epidemiologica con un caso confermato.*

*2. L'autorità competente classifica un animale o un gruppo di animali come un caso confermato di una malattia elencata o di una malattia emergente quando:*

- *a) in un campione prelevato da un animale o da un gruppo di animali è stato isolato l'agente patogeno, ad eccezione dei ceppi vaccinali;*
- *b) in un campione prelevato da un animale o da un gruppo di animali che presentano segni clinici compatibili con la malattia o una connessione epidemiologica con un caso sospetto o confermato è stato individuato un antigene o un acido nucleico specifico dell'agente patogeno, non derivante dalla vaccinazione; oppure*
- *c) in un campione prelevato da un animale o da un gruppo di animali che presentano segni clinici compatibili con la malattia o una connessione epidemiologica con un caso sospetto o confermato è stato ottenuto un risultato positivo, non derivante dalla vaccinazione, utilizzando un metodo diagnostico indiretto....".*

Pertanto, mentre la disciplina eurounitaria subordina la classificazione di "caso confermato", in primo luogo, all'isolamento dell'agente patogeno, che è possibile ottenere soltanto in seguito all'esecuzione di test batteriologici, ovvero che i campioni prelevati per l'effettuazione di test sierologici per la ricerca dell'antigene o dell'acido nucleico specifico dell'agente patogeno provenga da capi che abbiano già segni clinici compatibili con la presenza della malattia, il Programma regionale non prevede l'effettuazione di prove batteriologiche ma soltanto sierologiche (SAR e F.d.C.), addirittura ritenendo – in talune ipotesi – che la positività alla sola SAR comporta la "conferma" dell'infezione, senza alcuna indagine supplementare.

Le medesime discrasie si rilevano con riferimento all'individuazione dei capi sospetti.

Secondo il Regolamento UE n. 689/2020 il sospetto della malattia si desume anzitutto attraverso l'esame di test clinici, *post mortem* o di laboratorio, allorché dagli stessi è possibile ritenere che i segni clinici, le lesioni *post mortem* o i risultati istologici sono indicativi della presenza di tale malattia: invece, secondo il Programma regionale, i risultati, anche dubbi, alle sole prove in vita (cioè positivo alla SAR e negativo alla FDC) sono ritenuti sufficienti a far ritenere un caso sospetto, nelle zone non indenni/non cluster, con conseguente isolamento dello stesso e successiva macellazione; mentre, nelle zone indenni/cluster, sarà sufficiente la sola positività alla SAR per determinare l'abbattimento del capo e la sospensione della qualifica di indenne: anche su tale profilo ci si soffermerà *infra*.

Tali differenze di procedure diagnostiche tra la normativa Europea e la disciplina regionale, naturalmente, non hanno connotato soltanto formale, ma sostanziale, considerato che

l'inattendibilità dei metodi sierologici di accertamento della brucellosi bufalina è oramai generalmente riconosciuta dalla Comunità scientifica.<sup>1</sup>

Partendo dalle considerazioni della Comunità scientifica, il T.A.R. di Salerno, con sentenza del 27 novembre 2020, n. 1800, ha evidenziato: “...*La diagnosi della brucellosi animale (e umana) si basa sull'uso di metodi sierologici, batteriologici o molecolari. I metodi sierologici (nelle diverse forme del test di agglutinazione, fissazione del complemento od ELISA) si basano tutti sulla ricerca degli anticorpi contro le brucelle presenti nel sangue dell'animale. Il metodo batteriologico è unico e si basa sull'isolamento delle brucelle dal latte o dai tessuti dell'animale. Il metodo molecolare più usato è indicato con l'acronimo PCR (reazione a catena della polimerasi) e si basa sulla ricerca del DNA di brucelle – vive o morte – nel latte o (più raramente) nei tessuti dell'animale. **La diagnosi della brucellosi animale purtroppo si basa quasi sempre sui metodi sierologici.** Secondo un lavoro abbastanza recente (Godfroid et al. 2005), **l'elevato numero di false reazioni sierologiche positive (cioè l'elevato numero di animali diagnosticati infetti in base al test sierologico, ma che in realtà non sono infetti)** rappresenta uno dei problemi più seri che le autorità sanitarie dovrebbero decidersi a governare. Le false reazioni positive derivano dalla presenza nel sangue da testare di anticorpi diretti, non contro le brucelle, ma contro batteri che somigliano alle brucelle. Inoltre gli animali sieropositivi possono essere animali infetti che hanno contrastato l'infezione od animali resistenti (...). Onde ovviare alle impasses ingenerate dagli illustrati fenomeni di aspecificità e di discordanza, l'elaborato tecnico-scientifico in parola suggerisce l'espletamento di adeguati supplementi di indagine, segnatamente, sia mediante ripetizione della diagnosi convenzionale (SAR – FdC) nell'ambito della rete degli Istituti Zooprofilattici Sperimentali sia mediante esecuzione di prove diagnostiche complementari, con caratteristiche e principi di reazione diversi, più sensibili e/o più specifiche della SAR e della FdC, in combinazione tra loro.*

*Queste ultime – precisa il rapporto ISS n. 05/21 – possono essere di tipo immuno-umorale (antigene/anticorpo), ormai considerate classiche, come l'MRT o prova dell'anello sul latte, la gel-immunoprecipitazione, la SAL (SieroAgglutinazione Lenta in provetta), il test di Coombs o degli anticorpi incompleti (Ciuchini et al., 2002) e l'ELISA indiretta (Nielsen et al., 1989; Ferriera et al., 2003; Erdenebaatar et al., 2003; Bajani Ari et al., 2004) o competitiva (Nielsen et al., 1995; Marìn et al., 1999), che svelano differenti classi di immunoglobuline e spesso risultano più sensibili o più specifiche, oppure prove come la fluorescence polarization assay (FPA), (Gall et al., 2000; Nielsen et al., 2000; Nielsen & Gall, 2001, McGiven et al., 2003 Nielsen et al., 2004) o il western blotting (Kittelberger et al., 1998; Corrente et al., 2004)...Bisogna ricordare che in un contesto di reazioni sierologiche falsamente positive, nella brucellosi bovina o ovi-caprina, è impossibile formulare una diagnosi di certezza sulla base dei risultati dei test convenzionali, anche se ripetuti, effettuati su un*

---

<sup>1</sup> Si veda il Rapporto n. 5/21 dell'Istituto Superiore di Sanità, che trae le mosse dalla considerazione che: “I programmi di eradicazione delle brucellosi animali prevedono una sorveglianza sier-epidemiologica degli allevamenti bovini e ovi-caprini che si avvale delle reazioni di SieroAgglutinazione Rapida con antigene al Rosa Bengala (SAR-Ag:RB) e di Fissazione del Complemento miniaturizzata (FdC-mi), utilizzate, rispettivamente, come reazioni di screening e di diagnosi individuale. Nella diagnosi sierologica di brucellosi si possono verificare reazioni aspecifiche nelle quali i risultati non trovano riscontro con l'effettiva presenza o assenza della malattia sia a livello epidemiologico che clinico o batteriologico. Una particolare importanza rivestono le reazioni falsamente positive che, in una situazione di bassa prevalenza di infezione, possono indurre ad una sovrastima dei casi positivi con restrizioni pesanti a carico degli allevatori. Le due reazioni possono anche fornire risultati discordanti in cui il riscontro effettivo con l'infezione brucellare si ha in uno solo dei due casi. In questa rassegna vengono considerate tutte le possibili cause delle discordanze e delle reazioni aspecifiche, sia falsamente positive che negative, che hanno creato e creano tutt'ora rilevanti problemi nell'ambito della sorveglianza sier-epidemiologica”.

Orbene, l'I.S.S., analizzate le cause che determinano la scarsa affidabilità delle ridette metodologie diagnostiche sierologiche, prospetta la necessità di ricorrere, quanto meno, a test complementari, con caratteristiche e principi di reazione diversi, più sensibili e/o più specifiche della SAR e della F.d.C., in combinazione tra loro, di tipo immuno-umorale (antigene/anticorpo), quali l'MRT o prova dell'anello sul latte, la gel-immunoprecipitazione, la SAL (SieroAgglutinazione Lenta in provetta), il test di Coombs o degli anticorpi incompleti e l'ELISA indiretta o competitiva: ciò, peraltro, alla luce della più autorevole Letteratura scientifica in materia.

solo prelievo (Pouillot et al., 1999); meglio quindi adottare la strategia di una combinazione di test da valutare in relazione a studi epidemiologici ad hoc (Ferroni, 2004)... alla luce delle superiori direttive tecnico-ermeneutico-applicative, denotanti una generale propensione per l'approfondimento istruttorio dei dati diagnostici incerti e controvertibili, gli esiti negativi rivenienti dagli esperiti, e più attendibili, metodi prova diretti – quali, appunto, i test batteriologici di cui ai RdP prot. n. 154004-154005-154006 del 21 ottobre 2019, prot. n. 173105-173106-173107 del 25 novembre 2019, prot. n. 11378-11379-11380 del 20 gennaio 2020 – avrebbero dovuto ragionevolmente indurre l'amministrazione non già ad accontentarsi, bensì a dubitare di quelli positivi rivenienti dai parimenti esperiti, e meno attendibili, metodi di prova indiretti – quali, appunto, i test sierologici SAR e FdC...”.

Inoltre, il TAR Campania, con Ordinanza della Quinta Sezione, n. 4273, del 21 giugno 2021, in considerazione del fenomeno dei “falsi positivi” direttamente connesso alla scarsa attendibilità delle metodologie applicate, ha ravvisato la necessità che venisse disposta una verifica sui capi bufalini ancora in vita, ricorrendo “...**ad analisi diverse da quella sierologica** (in tal senso, decreto presidenziale del Consiglio di Stato sez. III, 12 gennaio 2021 n. 03242) ovvero, secondo quanto allegato in ricorso, alla prova batteriologica associata al metodo molecolare (PCR), **relazionando anche sull'eventuale maggiore affidabilità di tali prove rispetto a quelle sierologiche utilizzate nella fattispecie de qua per il rilevamento dell'infezione e quindi sul grado di attendibilità o meno dei test in precedenza eseguiti**”.<sup>2</sup>

Criticità si rilevano, inoltre, rispetto alla previsione del Programma regionale che riconduce nella definizione di “caso confermato”, a seguito della positività al **solo test SAR**, l'ipotesi di animali presenti in allevamenti, confermati come focolai, che si collocano in zone non indenni e presenti nelle aree *cluster*: infatti, tale previsione si pone in contrasto con l'Allegato, parte B, al D.M. 27 agosto 1994, n. 651, che dispone: “**Tutti i sieri positivi alla SAR-Ag: RB devono essere saggiati con la F.d.C. per la conferma**”.

La disposizione secondo cui, sempre con riferimento agli stabilimenti che si collocano in zone non indenni e presenti nelle aree *cluster*, la **positività alla sola prova SAR comporta l'abbattimento dei capi, in quanto ritenuti sospetti** va armonizzata con le previsioni del richiamato D.M., nella misura in cui non prevede l'esecuzione della prova con la Fissazione di Complemento per la conferma della presenza della patologia in parola.

---

<sup>2</sup> Sul punto, la recente giurisprudenza del Consiglio di Stato ha confermato tale assunto, laddove ha ritenuto che “allo stato: vanno condivise le motivazioni espresse dal decreto n. 2963 del 26.5.2020, con riguardo oltre che alla rilevanza dei casi di bovini apparentemente positivi FdC [FdC-mi: fissazione del completamento] **poi abbattuti e risultati invece negativi alle analisi “post mortem”**; alla circostanza che la stessa ordinanza appella riconosce incertezze e difetto di ulteriori analisi da parte della Asl, che ha omesso di approfondire gli esami avvalendosi ulteriormente di organi tecnici di migliore qualificazione; Ritenuto che l'appellante ha dichiarato che i capi sospetti o positivi FdC **sono stati isolati da molte settimane e nessuno dei sintomi della brucellosi è comparso**; Rilevato che tali circostanze avrebbero dovuto indurre la Asl ad una più accurata attività di analisi, essendo **l'isolamento utilizzabile anche per seguire la eventuale evoluzione sintomatica dei capi bovini, e poi eventualmente trarre le valutazioni definitive, in luogo di ordinare, tout court e subito, l'abbattimento generalizzato, su cui pure il primo Giudice è in parte intervenuto**” (C.d.S., ord. n. 3777/2020).

Si vedano altresì:

- a) Cons.St., sez.III ord. 12/5/2022, n. 2175, con la quale è stata ribadita la necessità di ulteriori verifiche prima dell'abbattimento di capi bufalini;
- b) Cons.St., sez.III ord. 3/5/2022, n. 3450 che consolida l'orientamento secondo cui servono nuovi esami sui capi ancora in vita prima di abatterli per possibile brucellosi.

Analoghe considerazioni possono essere svolte per quanto concerne la sezione del Programma dedicata alla **tubercolosi nella specie bufalina e bovina**, ove viene prevista l'esecuzione della prova con il gamma interferone, in alternativa rispetto a quella con l'intradermotubercolinizzazione singola IDTs, ai fini della concessione dello *status* di allevamento indenne da TBC (punto B.1), quale prova per la restituzione della qualifica sanitaria e quale *test* di conferma nei casi dubbi all'IDT nella specie bufalina (punto B.4), quale prova da effettuare a seguito della sospensione della ridetta qualifica (punto B.5) nonché a seguito di apertura di focolaio (punto B.7.2.).

L'effettuazione del test risulta essere eseguita con il kit BOVIGAM che non è validato per il bufalo mediterraneo, in quanto, per esplicita affermazione dell'azienda produttrice, la procedura per certificare con il kit il bufalo d'acqua è solo avviata, con set completo di dati ancora in corso di valutazione.

Inoltre, il Programma, nel Paragrafo B.4, della *Parte Generale*, rubricato "*Esecuzione prove diagnostiche – Sospensione e riacquisizione dello status di indenne da TBC*", prevede che, nell'ipotesi in cui la prova diagnostica eseguita con la intradermotubercolinizzazione singola (IDTs) dia esito dubbio, **nella specie bufalina**, vada effettuata la prova con il gamma interferone, onde accertare lo stato sanitario dei capi saggiati.

Sul punto, si evidenzia che l'allegato III al regolamento UE n. 689/2020 prescrive, alla sez. 2, che per la infezione da complesso *mycobacterium tuberculosis*, vadano effettuati le seguenti prove:

- punto 1 – prove di intradermoreazione alla tubercolina:
  - a) intradermotubercolinizzazione unica (IDT);
  - b) intradermotubercolinizzazione comparativa (IDT comparativa).
- punto 2: prova del gamma interferone.

Appare pertanto evidente che la surriportata disposizione, così come articolata, pone in rapporto di stretta consequenzialità l'IDT singola (unica) e comparativa, quest'ultima quale *test* di conferma, non potendosi dar luogo ad una commistione della stessa con la prova del gamma interferone.

Per quanto concerne infine il Programma regionale, nella parte relativa alla vaccinazione contro la brucellosi si evidenzia che viene resa obbligatoria solo nei 4 comuni *cluster* ricadenti nella zona rossa, prescrivendola come facoltativa nei 7 comuni cuscinetto dell'area *cluster*, e subordinando, in ogni caso, la effettiva somministrazione della stessa a condizioni estremamente stringenti.

È previsto, infatti, che **la vaccinazione** contro la BRC, da somministrare ai vitelli dai 6 ai 9 mesi, escludendo i maschi destinati alla riproduzione, **sia circoscritta unicamente alle aziende ufficialmente indenni o a quelle Focolaio che hanno riacquisito la qualifica di ufficialmente indenne**, e che sia invece **vietata** nel caso in cui una stalla facente parte di un'unica unità epidemiologica risulti sospetta o Focolaio, così impedendo che una stalla indenne, sol perché ricadente nella stessa unità epidemiologica, possa vaccinare, riducendosi così drasticamente la effettiva somministrazione del vaccino e conseguentemente inefficace la relativa copertura vaccinale.

Andrebbero fornite adeguate motivazioni in ordine alle suddette restrizioni, atteso che la vaccinazione contro la BRC è ammessa e consentita dal Regolamento UE n. 429/2016 come uno degli strumenti ordinari per contrastare la malattia.