

## LA FEBBRE Q NEI BOVINI CON PARTICOLARE RIGUARDO ALLA COLONIZZAZIONE DI *COXIELLA BURNETII* NELLA MAMMELLA

B. MORETTI

Istituto di Patologia Speciale e Clinica Medica, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università di Perugia

**Riassunto.** – L'autore fa una dettagliata rassegna sintetica della febbre Q nei bovini prendendone in considerazione l'aspetto eziologico, epidemiologico, la patogenesi, le più idonee indagini di laboratorio, le manifestazioni cliniche e la profilassi diretta ed indiretta. Particolare rilievo viene riservato al comportamento della mammella nel quadro della infezione nei bovini a produzione latte.

**Summary** (Q fever in cows with special reference to udder's colonization by *Coxiella burnetii*). – *The problem of Q fever of cows is reviewed considering etiology, epidemiology, pathogenesis, the most suitable laboratory investigations, symptoms and direct and indirect prophylaxis. Attention is particularly focussed on the udder infection of the dairy cows.*

### Reperti eziologici

La febbre Q nei bovini è sostenuta da *Coxiella burnetii* microrganismo che appartiene al gruppo delle *Rickettsiae*, di forma generalmente allungata (0.3u × 0.7u) od ovale, acapsulato, immobile, quasi sempre Gram-negativo. Per la sua identificazione nei materiali patologici si ricorre soprattutto ai metodi di colorazione di Machiavello, di Köster e di Stamp. Si divide per fissione binaria, come gli schizomiceti, anche se vi sono alcune ricerche che tenderebbero ad ammettere la presenza di una forma filtrabile nei primi stadi del processo replicativo [1]. Non sviluppa sui comuni terreni colturali, ma, come i virus, su uova embrionate e su vari tipi di colture cellulari: fibroblasti di embrione di pollo, fibroblasti di topo (cellule «L»), cellule da rene di scimmia, cellule tumorali, cellule provenienti da rettili, cellule di artropodi, cellule di scimmia (*Green Monkey*) [2]. La coltivazione su colture cellulari non viene ancora utilizzata né a scopo diagnostico né per la preparazione di antigene da utilizzare per le prove sierologiche, specialmente per quest'ultimo scopo, la coltura in uova embrionate di pollo rappresenta ancora il

sistema migliore. *C. burnetii* presenta variazioni di fase: fase I e fase II che possiedono antigeni diversi. Queste due fasi sono gli equivalenti degli stati «Smooth» (S) e «Rough» (R) degli altri batteri. Il ceppo di recente isolamento è in fase I e dopo 8-20 passaggi in uova embrionate assume la fase II, reversibile in fase I con un solo passaggio su cavia [1, 3, 4]. Per la preparazione dell'antigene per la deviazione del complemento vengono preferiti ceppi della fase II, per la preparazione di antigene per l'agglutinazione ceppi della fase I. L'antigene corrispondente alla fase I possiede un'attività immunogena superiore a quella espletata dall'altro antigene ed è perciò più idoneo alla preparazione di un vaccino. La *C. burnetii* si differenzia dalle altre rickettsie per la possibilità che ha di infettare l'uomo senza l'intervento di alcun artropode vettore, come si verifica invece, quasi sempre, per tutte le altre rickettsiosi umane, per la filtrabilità attraverso membrane di collodio con pori di diametro di 400 nanometri [5] o attraverso filtri Millipore di 100 nanometri, attraverso i quali possono filtrare particelle analoghe ai virus che si formano durante il processo moltiplicativo di *C. burnetii*, per la lunga sopravvivenza nel latte e nell'acqua, 1 o più anni, e per la sua considerevole resistenza agli agenti fisici e chimici che si ritiene dovuta ad una spora messa in evidenza al microscopio elettronico [6].

### Aspetti epidemiologici

I bovini infetti eliminano *C. burnetii* soprattutto con il latte, con la placenta e con i liquidi amniotici. Le coxielle possono essere presenti anche nelle carni e negli organi destinati alla alimentazione di animali sierologicamente positivi, però in quantità nettamente inferiore a quella in genere e più frequentemente presente nella mammella e nell'utero ed in quantità non sufficiente, secondo la maggior parte degli autori, a determinare nell'uomo infezione attraverso la via digerente, anche perché il processo di maturazione delle carni e la cottura ad 80 °C rendono inoffen-

sive le coxielle presenti. Il pericolo di infettarsi per via aerogena e percutanea esiste invece per i macellatori durante la lavorazione di carni e organi di animali infetti come appare dagli episodi a carattere epidemico di febbre Q insorti appunto fra il personale addetto ai macelli. Fra tutti gli alimenti di origine animale, il più grande rischio di infezione per l'uomo risiede nel latte crudo, perché esso presenta spesso contenuti di coxielle molto elevati che frequentemente vanno da  $10^3$  a  $10^5$  di Unità Infettanti/ml.

A questo proposito però i pareri non sono concordi, in quanto alcuni autori ritengono che il 30% dei casi di febbre Q nell'uomo derivi dal consumo di latte crudo o di suoi derivati ed il restante 70% dalla lavorazione di latte rickettsiosico nei caseifici o della carne nei mattatoi [7], mentre altri suppongono che tale consumo determini nell'uomo soltanto una reazione sierologica positiva raramente accompagnata da manifestazioni cliniche [8, 9].

*Coxiella burnetii* persiste a lungo nei derivati del latte infetto non sottoposto a pastorizzazione: il burro refrigerato è stato riscontrato infettante per ben 41 giorni dopo la sua preparazione; anche i formaggi molli rimangono infettanti per alcune settimane [7]. Il latte rickettsiosico conservato in frigorifero rimane infettante per almeno 3 mesi [10], come pure dopo essere stato sottoposto a temperature di  $63^\circ\text{C}$  per 30 minuti [11]. Fra gli alimenti di origine animale che possono contenere coxielle reintrano anche le uova. I polli, i piccioni, le anatre e le oche allevate in aziende infette possono andare soggetti alla febbre Q [12, 13] ed è stata pure documentata la trasmissione transovarica di *C. burnetii* in polli sperimentalmente infettati [14]. La notevole resistenza al calore delle coxielle, induce a ritenere che esse abbiano la possibilità di sopravvivere nelle uova parzialmente cotte o nei loro derivati.

La diffusione della infezione può essere favorita anche dai cani dei pastori che si possono infettare ingerendo placenta contaminata ed eliminano le coxielle con le urine e con le feci; le zecche che succhiano il loro sangue possono diventare vettrici della infezione [15-18].

### La malattia nell'uomo

La febbre Q nell'uomo è quasi sempre clinicamente manifesta; esistono tuttavia casi, e ciò capita specialmente nei bambini, nei quali decorre sub clinicamente e può venire svelata soltanto sierologicamente [19]. La febbre Q nell'uomo, che è sempre strettamente collegata con la diffusione della stessa infezione fra gli animali domestici, esordisce improvvisamente, dopo un periodo di incubazione variabile da 10 a 26 giorni, con febbre elevata ad andamento remittente, cefalea, osteo artro mialgie, iniezione congiuntivale, spiccata fotofobia, grado variabile di obnubilamento e talora meningismo, bradicardia relativa, tosse con espettorato mucoso, a volte emati-

co, polmonite nel 90% dei casi con scarsi od assenti reperti fisici toracici, cui fa contrasto un ben evidente reperto radiologico contraddistinto da opacità con aspetto di vetro smerigliato ed epato-megalia. Possibili complicanze vascolari, endocardiche, pleuriche, pericardiche, decorso protratto (prognosi favorevole), mortalità rara, meno dell'1%. La clortetraciclina, il cloramfenicolo e l'ossitetraciclina sono efficaci. La malattia può assumere un carattere epidemico, endemico e sporadico. Il quadro anatomo-patologico polmonare è caratterizzato da polmonite prevalentemente interstiziale con essudato infiltrante i setti intralveolari, costituito da abbondanti cellule mononucleate e scarsissimi polinucleati e dalla presenza di estese zone atelettasiche [5].

La febbre Q nell'uomo in Italia è stata osservata per la prima volta nel 1944-45 fra le truppe alleate in forma epidemica; dal 1949 al 1951 si è registrato un susseguirsi di focolai epidemici; successivamente la malattia ha assunto un carattere endemico e sporadico con modesta incidenza di casi. Da segnalare le ricerche effettuate da Baldelli [20-23] in occasione dell'insorgenza di focolai epidemici di febbre Q a Chiaravalle ed a S. Lorenzo in Campo, nel periodo 1949-1951. Nel focolaio di Chiaravalle Baldelli isolò ed identificò *C. burnetii* per mezzo della prova biologica su cavia dal sangue di due pazienti e dal latte e dagli organi delle pecore incriminate; in quello di S. Lorenzo in Campo, caratterizzato da 225 persone colpite con due esiti letali, isolò *C. burnetii* dal latte di quattro pecore di un gregge che stanziana a poche decine di metri dall'abitato. Otto pecore dello stesso gregge vennero ricoverate in uno stabulario dell'Istituto Zooprofilattico di Perugia per effettuare adeguate ricerche e 18 giorni dopo il loro arrivo, si ammalarono di febbre Q 14 persone dell'Istituto.

Dai risultati delle ricerche effettuate su questo gruppo di pecore spontaneamente infette l'autore ha potuto trarre le seguenti conclusioni:

a) la fissazione del complemento può essere eseguita anche sul siero di latte;

b) gli animali infetti eliminano coxielle con il latte, soprattutto nei primi giorni di lattazione, a conferma che il momento del parto ed i giorni immediatamente successivi, costituiscono i tempi più favorevoli all'insorgenza della febbre Q nell'uomo.

Ricerche effettuate nel 1951 [24, 17] hanno potuto documentare l'esistenza di uno stretto rapporto fra parto dei bovini, anche normale, e febbre Q nell'uomo.

Mirri [25, 26], in Sicilia dove si erano verificati episodi endemici di febbre Q nell'uomo, esaminò con la deviazioni del complemento il siero di sangue di 3706 animali (bovini, caprini, ovini, equini, cani, maiali, gatti, ratti, oche, anatre); nei bovini ottenne risultati positivi nel 32% e, negli ovini nel 39% dei casi e poté constatare una stretta dipendenza fra focolai di febbre Q negli animali e quelli nell'uomo.

Ricerche in Italia sulla febbre Q riguardanti gli animali domestici (ovini, bovini, cani), sono state condotte da vari autori [15-17, 27-30].

Le indagini condotte in Germania Federale, in Svizzera ed in Francia, in tempi più recenti, hanno permesso di rilevare che la febbre Q è molto diffusa negli allevamenti di bovini da latte di questi paesi e che essa va sempre più diffondendosi, suscitando giustificate preoccupazioni nei Servizi Veterinari di Stato. Le regioni della Germania Federale maggiormente colpite nei loro allevamenti sono la Westfalia del sud, la Baviera, l'Asia centrale e meridionale [31-34]; quelle della Svizzera lo Jura, Zurigo, l'Ementhal bernese e l'Argovia [31, 35, 36]; quelle della Francia l'Alta Savoia ed anche altre dove è stato in particolare constatato un aumento degli aborti da rickettsie [3, 4, 37].

#### **Modalità d'infezione e patogenesi della febbre Q negli animali domestici (bovini, ovini, caprini)**

Si ritiene che una delle più importanti modalità di infezione negli animali domestici sia rappresentata dalla puntura della zecca, agente vettore e trasmettitore di *C. burnetii* ed in particolare di *Dermacentor*. In Baviera la febbre Q negli animali è presente appunto soprattutto nelle zone dove si trovano grandi popolazioni di *Dermacentor* [38, 39].

Mediante la deviazione del complemento effettuata con siero di sangue di 5184 mucche da latte, è stata evidenziata una notevole diffusione dell'infezione in una regione come la Westfalia, priva di biotipo per il *Dermacentor*; si ritiene perciò che la trasmissione si possa verificare anche da bovino a bovino senza l'intervento della zecca e, generalmente, per via respiratoria tramite materiale essiccato ad alto contenuto di coxielle come latte, placenta, lochiazioni [31, 40]. Va sottolineato, a proposito della trasmissione della infezione senza l'intermediario zecca, che i passaggi di *C. burnetii* negli animali a sangue caldo determinerebbero un'attenuazione della virulenza dell'agente eziologico, mentre quelli nelle zecche o nel sacco vitellino, una esaltazione. Babudieri [12] ritiene che *C. burnetii* passando direttamente da pecora a pecora, subisca un'attenuazione tale da non essere più in grado di provocare l'infezione, per cui l'infezione si esaurirebbe spontaneamente nell'allevamento con conseguente notevole diminuzione della possibilità di trasmissione all'uomo.

I tipi di zecche che si possono infettare con *C. burnetii* sono molto numerosi; ne sono stati individuati 37, 31 appartenenti alla famiglia *Ixodidae* (zecche a guscio duro, parassiti, soprattutto, dei mammiferi), 6 appartenenti alla famiglia *Argasidae* (zecche a guscio molle, parassiti, prevalentemente, degli uccelli). Le zecche si infettano alimentandosi con il sangue di animali portatori di *C. burnetii* e rimangono infette per tutta la durata della loro vita. Le coxielle ingerite dalla zecca si moltiplicano nelle

cellule dello stomaco e dell'intestino medio e vengono eliminate con le feci e, da parte di alcuni tipi di zecca, anche con la saliva emessa mentre si alimentano [19]. La *C. burnetii* pervenuta nell'organismo del bovino tramite le zecche o per via respiratoria, entra in circolo inducendo una batteriemia di breve durata in seguito alla quale si diffonde a tutti gli organi, utero e mammella compresi; in questi due ultimi si insedia e vi permane a lungo, anche per mesi ed anni, dando luogo ad una «infezione cronica latente», mentre negli altri scompare piuttosto precocemente.

Negli allevamenti, anche con grado elevato di infezione, non si rilevarebbe fra i giovani bovini dell'età di 6 mesi a 2 anni nessun soggetto con anticorpi specifici né della fase I, evidenziabili con il Test di Agglutinazione Capillare (CAT), né nella fase II, evidenziabili con la deviazione del complemento. A spiegazione di ciò viene avanzata l'ipotesi che i bovini diventino recettivi alla infezione soltanto a «completa» formazione della mammella. Gli anticorpi che si possono evidenziare nei primi mesi di vita, che regrediscono al massimo a 4-6 mesi di età, sono quelli materni.

#### **Manifestazioni cliniche dell'infezione naturale**

L'infezione da *C. burnetii* nei bovini, negli ovini e caprini, decorre in generale in forma clinicamente inapparente e viene svelata per mezzo di adeguate indagini di laboratorio. Tuttavia vengono anche riportati sintomi corrispondenti allo stadio di rickettsiemia, come febbre, abbattimento, ipogalassia, che però per la loro tenuità e breve durata non verrebbero generalmente evidenziati [41, 42]; è stata segnalata in due bovine una mastite ad un solo quarto, a carattere recidivante, come pure sintomi di rinite, congiuntivite e broncopolmonite, che oltre a non avere alcunché di caratteristico, mancano di adeguata documentazione eziologica [2, 6].

La sola manifestazione clinica ripetutamente osservata ed eziologicamente documentata è l'aborto, che si può anche complicare con ritenzione di placenta e metrite [33, 37, 43]. L'eziologia di questi aborti è stata accertata non solo sierologicamente, ma anche evidenziando *C. burnetii* nella placenta e nei liquidi amniotici sia per mezzo dell'esame microscopico che per mezzo della prova biologica.

#### **Comportamento della mammella nella febbre Q dei bovini**

La mammella riveste un ruolo importante come organo bersaglio, insieme all'utero, dell'agente eziologico, e come fonte di eliminazione di *C. burnetii* con il latte.

*Eliminazione di C. burnetii con il latte.* - L'eliminazione di *C. burnetii* con il latte è stata confermata da quasi tutti gli autori che si sono occupati di

questa infezione nei bovini sottolineandone l'importanza nei riguardi della trasmissione della malattia nell'uomo. È stato pure posto in evidenza come l'eliminazione anche massiva di coxielle con il latte non si accompagni a manifestazioni clinicamente apprezzabili di mastite, a meno che tale eliminazione non si verifichi in una mammella sede di processo infiammatorio da batteri mastidogeni (stafilococchi, streptococchi, ecc.). Come già ricordato nella patogenesi la *C. burnetii* perviene in corso di generalizzazione alla mammella, dove si insedia e permane, anche per mesi ed anni [44], determinando una infezione cronica latente; nonostante tale infezione derivi da generalizzazione, non sempre risultano tutti e quattro i quarti mammari eliminatori di coxielle per il motivo che esse possono venire eliminate anche in maniera intermittente.

L'infezione mammaria da generalizzazione è indubbiamente la più frequente a verificarsi; non si può tuttavia escludere anche una infezione locale attraverso il canale del capezzolo, provocata da paglia o feci contaminate. Secondo Rolle e Mayr [45], se l'infezione verificatasi in questo modo rimane localizzata alla mammella senza generalizzare, non si avrà formazione di anticorpi e perciò le indagini effettuate sul siero di sangue forniranno esito negativo, anche se con il latte vengono eliminate coxielle. Però anche da focolai mammari localizzati, le coxielle possono, in seguito a condizioni stressanti od immunosoppressive, entrare in circolo e determinare localizzazioni sistemiche come ad esempio quella uterina.

Esisterebbe un rapporto fra entità di titoli ematici di anticorpi valutati con la deviazione del complemento ed eliminazione di coxielle: più elevati sono tali titoli, tanto maggiori sono le possibilità che vi sia eliminazione delle coxielle con il latte. Titoli di 1:80 e più stanno ad indicare quasi il 100% di eliminatori [31].

Può accadere, tuttavia, che anche la deviazione del complemento sul siero di sangue risulti negativa in soggetti eliminatori. Schaaf [42] evidenziò con la prova biologica *C. burnetii* nel latte di 22 bovine di un allevamento costituito da 72 soggetti. Nove di queste 22 bovine reagirono positivamente alla prova sierologica, 9 in maniera dubbia (e 5 di esse in determinati periodi, anche negativamente), 4 negativamente in prove sierologiche ripetute ben 8 volte. La negatività delle prove sierologiche in soggetti eliminatori, si può osservare soprattutto in animali di allevamenti fortemente infetti, dove possono essere presenti soggetti infettatisi di recente nei quali non si è ancora verificata la formazione di anticorpi in quantità sufficiente per un titolo di positività e che possono, tuttavia, eliminare già coxielle con il latte, oppure in soggetti con una infezione locale della mammella verificatasi per via diatetica e non seguita da generalizzazione. Pertanto, per individuare tutti i soggetti eliminatori di coxielle, procedura indispensabile per procedere al risanamento di un allevamento,

la deviazione del complemento (od il CAT) deve essere abbinata alla prova biologica su cavia praticata con il latte.

Secondo indagini effettuate da Schaal [40], il contenuto in coxielle da parte dei campioni di latte infetti varia da  $10^3$  a  $10^5$  UI/ml, ed il latte contiene regolarmente più coxielle del tessuto mammario e dei relativi linfonodi. I linfonodi sopramammari contengono l'agente eziologico anche più frequentemente del tessuto mammario ed il titolo infettante tradotto in dosi infettanti medie per la cavia (CA DI<sub>50</sub>) è spesso più alto, o per lo meno uguale a quello del parenchima mammario (la determinazione del titolo viene eseguito secondo il metodo di Spearman e Kaerber). I valori di UI/ml del latte risultano piuttosto elevati, però non raggiungono quelli dei liquidi amniotici che possono variare da  $10^8$  sino a  $10^9$ /ml (100.000.000 - 1.000.000.000 UI/ml) [46, 47].

*Formazione di anticorpi.* - La comparsa di anticorpi nel sangue e nel latte si verifica spesso contemporaneamente nei bovini infetti ed in generale i titoli ematici sono più elevati di quelli del latte. Gli anticorpi del latte sono quelli fissanti il complemento (anticorpi della II fase) e quelli agglutinanti (anticorpi della I fase).

Baldelli [48, 49] osservò che la deviazione del complemento sul siero di latte (siero-latto-reazione) di 5 pecore era positiva nelle 3 che eliminavano coxielle con il latte e negativa, nonostante l'alto titolo anticorpale ematico nelle 2 che non ne eliminavano.

Schaaf [42] effettuò la stessa prova sul siero di latte di 4 bovine pure eliminatrici di coxielle, 3 di esse risultarono ripetutamente positive anche dalla deviazione del complemento effettuata sul siero di latte, a titoli però inferiori a quelli ematici, ed 1 risultò negativa, nonostante la positività del titolo ematico. I risultati ottenuti di conseguenza dimostrano che alla positività della deviazione del complemento sul siero di sangue, non corrisponde in tutti i casi una positività sul siero di latte.

*Istopatologia della mammella eliminatrice di C. burnetii.* - All'esame anatomo-patologico dei quarti mammari di alcune bovine il cui tessuto conteneva coxielle da  $10^{0,5}$  a  $10^3$ /g, non sono state osservate lesioni ed all'esame istologico non sono state messe in evidenza alterazioni infiammatorie o degenerative sia a carico del tessuto proprio alveolare sia di quello interstiziale [40]; si riuscì però ad evidenziare con lo Stamp o con il Giemsa, la presenza di cellule infette situate nell'interstizio, soprattutto in quello interalveolare, meno in quello interlobulare, mentre negli epitelii alveolari e nel lume degli alveoli non si evidenziò nessuna coxiella [50].

Le cellule ospitanti le coxielle erano riportabili a istiociti o a fibrociti e presentavano un nucleo generalmente rotondo, a cromatina molto densa (cario-picosi). Talvolta le cellule ospiti apparivano frantu-

mate con nucleo in cariolisi ed in questi casi l'agente eziologico si trovava nelle vicinanze della cellula stessa; non sono state evidenziate formazioni di vacuoli. L'esame istologico dei linfonodi sopramammari, che contenevano coxielle in una concentrazione generalmente maggiore di quella del tessuto mammario stesso, non mostrò alterazioni né infiammatorie né degenerative.

*Il latte secreto da mammelle ospitanti C. burnetii.* - Così come a carico del tessuto mammario ospitante *C. burnetii* non si hanno né alterazioni cliniche né anatomo-cliniche né anatomo-patologiche, così pure a carico del latte secreto da tale tessuto mammario non si osservano modificazioni quali-quantitative [12, 40].

Infatti nella febbre Q dei bovini da una iniziale coxiellemia si passa ben presto ad uno stadio di infezione «latente» a carico della mammella, dove le coxielle si annidano in elementi cellulari istiocitari dell'interstizio alveolare ed interlobulare senza provocare danni infiammatori o degenerativi a carico del tessuto mammario secernente e pertanto anche il latte possiede tutti i requisiti della normalità sia per il contenuto cellulare sia per il pH che per l'assenza di batteri mastidogeni.

### Diagnosi di laboratorio

Le ricerche di laboratorio che si ritengono le più idonee ad evidenziare la presenza della febbre Q negli allevamenti, sono soprattutto la deviazione del complemento sul siero di sangue e sul siero di latte [48], il test di agglutinazione capillare (CAT) sul latte e sul siero di sangue e la microagglutinazione sul siero di sangue.

Queste prove mettono in evidenza gli anticorpi specifici che si formano nell'organismo durante il decorso, generalmente subclinico, della infezione. Quelli devianti il complemento si formano circa 14 giorni dopo l'infezione, quelli agglutinanti più tardi, cioè 3-4 settimane dopo l'infezione; gli uni e gli altri persistono a lungo nel sangue dove sono evidenziabili anche dopo anni [51].

Le prove di laboratorio che hanno come obiettivo l'evidenziazione dell'agente eziologico, sono rappresentate dall'esame microscopico, dalla prova biologica nella cavia ed eventualmente dalle prove di isolamento eseguite con embrione di pollo.

### Deviazione del complemento

È la prova più usata nella diagnosi della febbre Q sia sugli animali domestici che nell'uomo e viene generalmente attuata nella forma di fissazione a freddo [52]. Nei bovini di allevamenti infetti si considera positivo il risultato quando alla diluizione del siero ad 1:10 è intervenuta una completa inibizione dell'emolisi, però anche titoli più bassi (1:5) possono

in qualche caso (14%) deporre per l'esistenza della infezione e per l'eliminazione di coxielle con il latte. Per individuare i soggetti eliminatori di coxielle la prova, come già prima ricordato, deve essere associata a quella biologica, specialmente quando i titoli sono bassi o dubbi; a titoli elevati, infatti, corrisponde in generale una elevata percentuale di eliminatori (90% al titolo di 1:80) o addirittura la totalità al titolo di 1:160 ed oltre [31].

L'antigene usato per questa prova è costituito da ceppi della fase II ed è rappresentato da una sospensione di sacco vitellino di embrioni di pollo infettati con ceppi avianizzati di laboratorio, fra cui il ceppo Henzerling, utilizzato dalla Behring-Werke, il ceppo Nine Mile usato dalla Roger-Bellon, a cui, recentemente, sarebbe stato aggiunto anche il ceppo Henzerling [3, 4, 53].

La deviazione del complemento viene eseguita anche sul siero del latte [48]. Il siero viene raccolto, previa coagulazione del latte a bagnomaria con aggiunta di piccole quantità di caglio e successiva centrifugazione per eliminare il grasso; indi, viene inattivato per 30' a 58 °C ed impiegato nella prova di deviazione del complemento per la febbre Q, secondo la tecnica di fissazione a freddo di Kolmer e Börner [52].

### Test di Agglutinazione Capillare (CAT)

Il CAT è un metodo di assai semplice esecuzione messo a punto per evidenziare anticorpi agglutinanti nel latte e nel siero [54]. Il CAT effettuato sul latte si basa sul principio della «prova dell'anello» per la diagnosi della brucellosi; l'antigene è colorato con emotosilina ed è allestito con ceppi in fase I.

Luoto [54] ha potuto dimostrare che tutti gli eliminatori, ad eccezione di quelli infettatisi di recente, reagiscono positivamente e che altre malattie infettive non interferiscono sul suo risultato.

Per questa prova occorre disporre di capillari di vetro di 10 cm di lunghezza e di 0,2 mm sino a 0,5 mm di diametro; questi capillari vengono immersi nel liquido antigene colorato sino a che per capillarità non si sono riempiti per un terzo; i rimanenti due terzi vengono pure riempiti per capillarità con il materiale da esaminare (latte e/o siero). Il capillare, una volta riempito, viene capovolto di 180°, cosicché la parte sottostante corrisponde a quella contenente l'antigene colorato, viene poi infisso in una piastra di Petri piena di vaselina oppure la parte sottostante viene chiusa con plastillina e dopo di ciò il capillare viene sistemato in posizione eretta [51].

Il giudizio sull'esito della prova viene dato dopo 4 ore di permanenza dei capillari a temperatura ambiente. La prova con il latte è positiva quando lo strato di panna salito in superficie è colorato in blu scuro, quello con il siero, quando nella colonna capillare si sono formati piccoli granuli colorati in blu scuro che è consigliabile per osservarli servirsi di una lente di ingrandimento.