

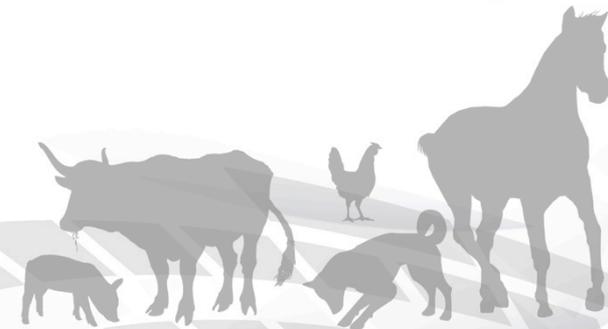
I risultati della ricerca corrente condotta
dall'Istituto Zooprofilattico Sperimentale
dell'Abruzzo e del Molise "G. Caporale Anno 2013
Teramo, 6 Giugno 2014



IZSAM G.CAPORALE
TERAMO

**Indagini sierologiche per la ricerca di anticorpi
verso *Brucella suis* e *Yersinia enterocolitica* in suini
al macello**

Flavio Sacchini





Progetto:

- Studio delle dinamiche di contaminazione da agenti zoonotici nell'ambito della filiera suinicola e dei meccanismi di insorgenza di patologie correlate all'infezione nell'uomo (IZSAM 03/09 RC)

➤ **U.O. 3.:** Reparto Sierologia – Resp. Dr.ssa Tittarelli M.

➤ **Attività:** Indagini sierologiche per la ricerca di anticorpi verso *Brucella suis* e *Yersinia enterocolitica* in suini al macello



Background

- 
- Lo studio prende spunto da un un gap conoscitivo sulla diffusione di *Brucella suis* in Italia come in Europa, e sui possibili rischi di introduzione di *B. suis* nella filiera alimentare
 - La Brucellosi suina è una zoonosi causata dalla *Brucella suis* biovar 1, 2 e 3, tra le quali, le biovarianti 1 e 3, sono particolarmente patogene per l'uomo
 - Attualmente non sono in vigore piani di sorveglianza per il controllo della Brucellosi suina



Background

- 
- Una opinione scientifica dell'EFSA (2009) ha sottolineato come la Brucellosi suina in Europa rappresenti un'infezione sporadica, principalmente causata da *B. suis* biovar 2 nei suidi selvatici, serbatoio di infezione, con limitati rischi di contaminazione della filiera suina (The EFSA Journal (2009) 1144, 1-112)
 - Nel documento si asserisce quindi che in base a diffusione, rischi di introduzione nella filiera suina e di trasmissione all'uomo non sussistono i presupposti (e una giustificazione dei costi) per un piano di sorveglianza ed eradicazione della brucellosi suina in Europa



Background

- 
- Tra il 2010 ed il 2013 segnalazioni di *B. suis* biovar 2 in cinghiali in Emilia Romagna, Piemonte, Lazio, Abruzzo, Marche e Umbria
 - Recenti indagini sierologiche e batteriologiche condotte in alcuni allevamenti suini, hanno fatto rilevare per la prima volta nell'Italia peninsulare (Lazio) 2012 la presenza di animali con elevati titoli anticorpali nei confronti di Brucella e consentito l'isolamento di *Brucella suis* biovar 2
 - Nel 2013 una nuova segnalazione di isolamento di *Brucella suis* biovar 2 in un allevamento suino in Sardegna (Cagliari)



Background

- 
- Dal punto di vista diagnostico, ad oggi non sono disponibili test sierologici per Brucellosi standardizzati per la specie suina. I test diagnostici utilizzati (SAR, FdC, ELISA) sviluppati per altre specie, possono indurre false positività sierologiche quando applicati alla specie suina
- Tali test si basano sulla rilevazione di Ab diretti verso l'antigene lipopolisaccaridico (S-LPS) di *Brucella* che tuttavia presenta delle omologie con altri batteri Gram negativi, primi fra tutti *Yersinia enterocolitica* O:9, diffusa nella popolazione suina e considerata la principale causa di false positività ai test sierologici per Brucellosi
- 
- 

Obiettivi

- 
- Valutare la presenza di *Brucella suis* nella filiera suina impiegando i test sierologici SAR, FdC, c-ELISA e i-ELISA e confrontare le performance dei vari test in condizioni di campo
 - Investigare eventuali cross-reattività ai test sierologici per brucellosi indotte da *Yersinia enterocolitica* O:9 per individuare un protocollo diagnostico differenziale



Campioni esaminati e test sierologici



Sieri

- 280 sieri suini prelevati al macello contestualmente a tamponi e matrici d'organo

➤ Test sierologici

▪ **Brucellosi**

- Sieroagglutinazione rapida con antigene acidificato al Rosa Bengala (**SAR**) - (OIE Manual 2009)
- Fissazione del Complemento (**FdC**) – Ag ceppo 99 di *B. abortus* biovar 1 – (OIE Manual 2009)



Test sierologici



Brucellosi

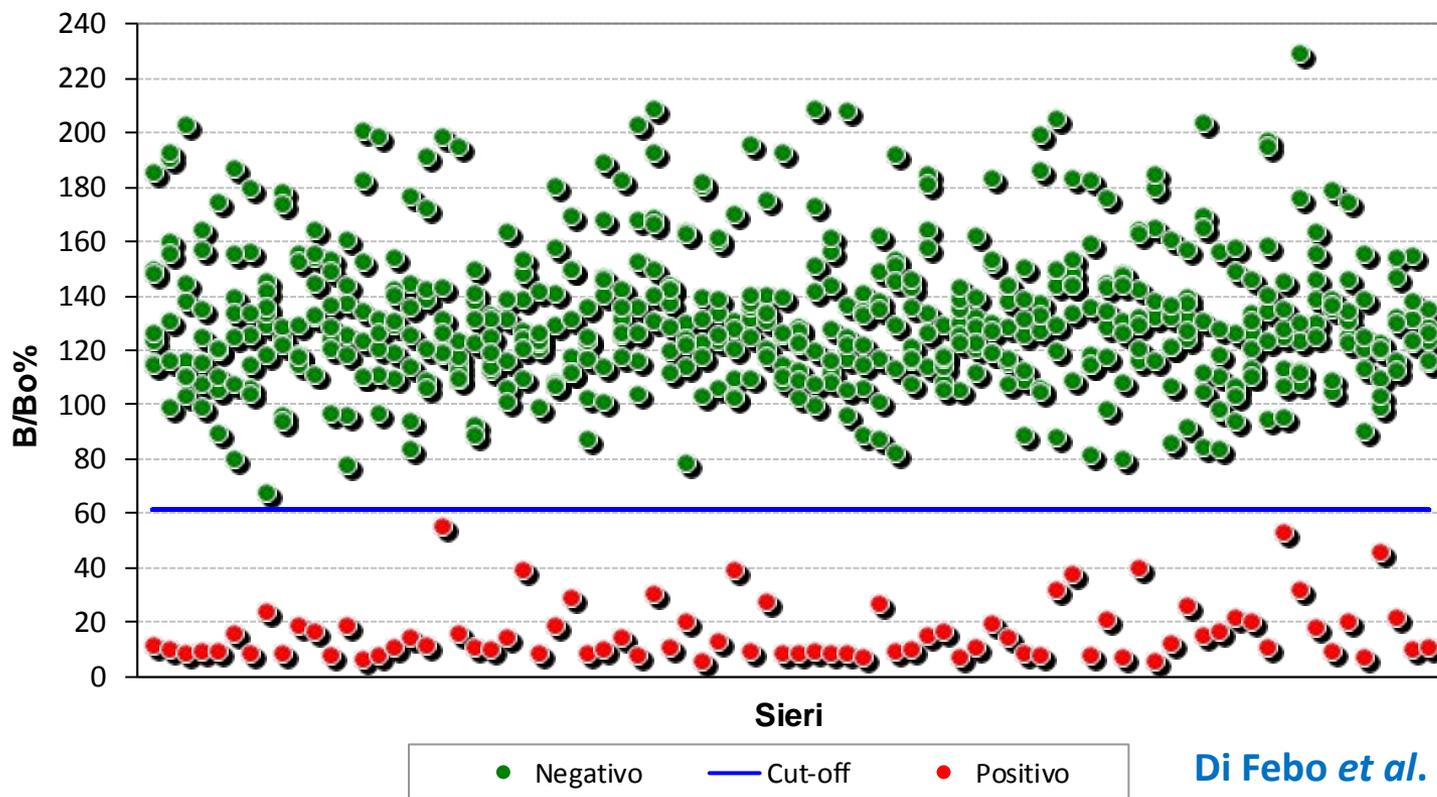
- ELISA competitiva (**c-ELISA**) – (Di Febo *et al.* 2012)
- ELISA indiretta (**i-ELISA**)

Yersinia enterocolitica

- **FdC** – Ag *Y. enterocolitica* O:9 (Virion)

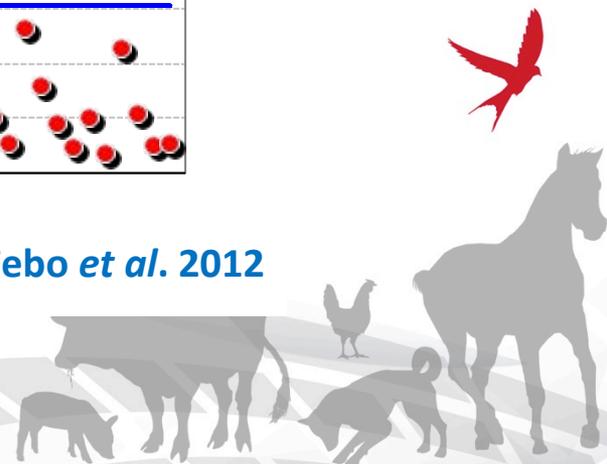


Performance c-ELISA

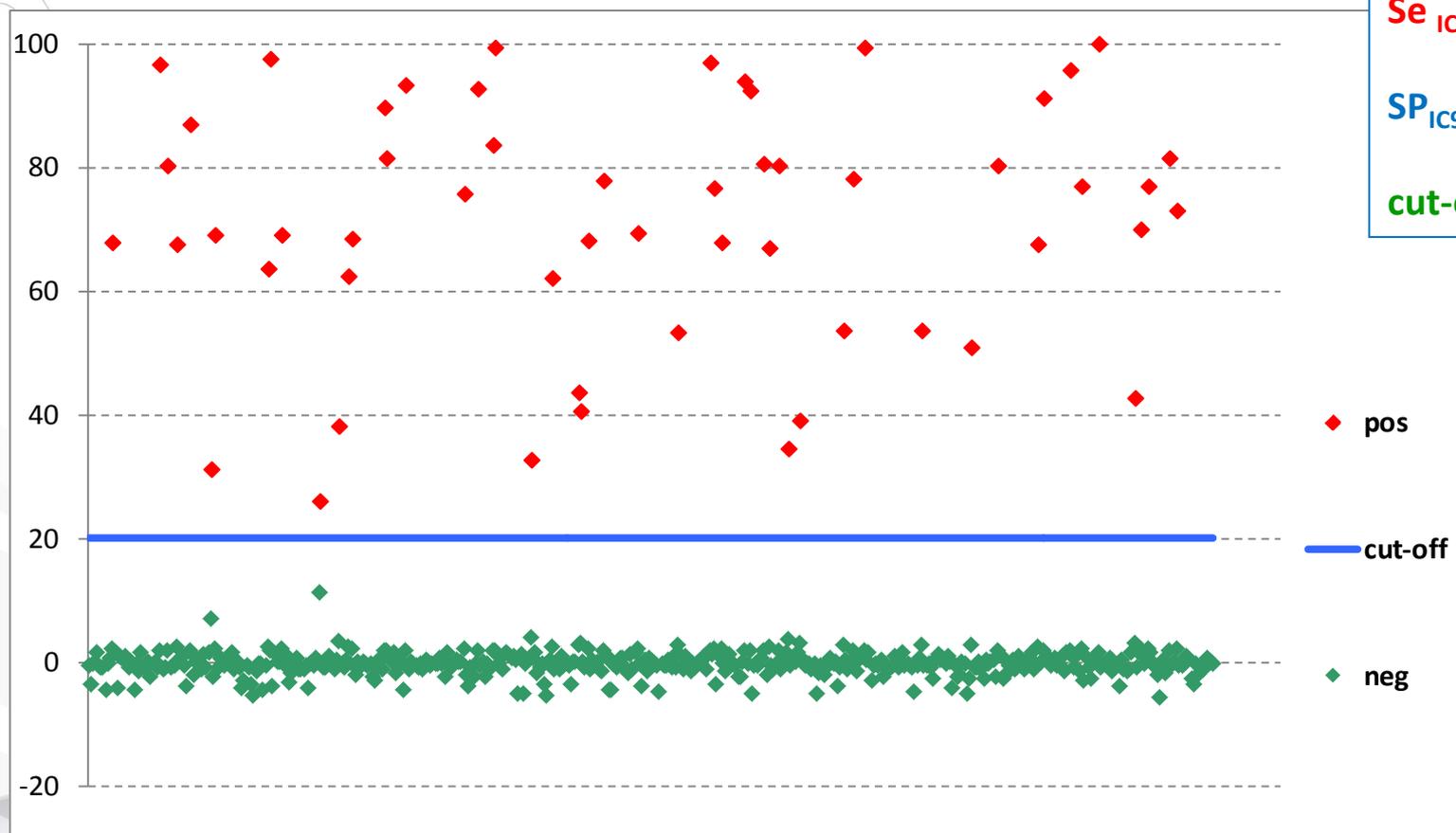


Se_{IC95%} = 96,4 – 100%
SP_{IC95%} = 99,4 – 100%
cut-off: 61% (B/B₀%)

Di Febo *et al.* 2012



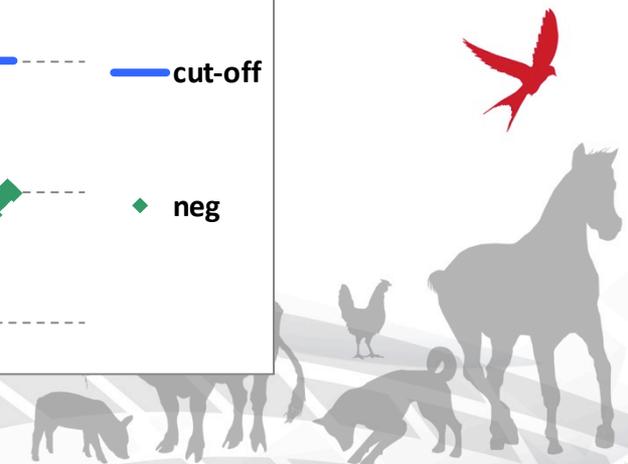
Performance i-ELISA



Se_{IC95%} = 96,4 – 100%

SP_{IC95%} = 99,4 – 100%

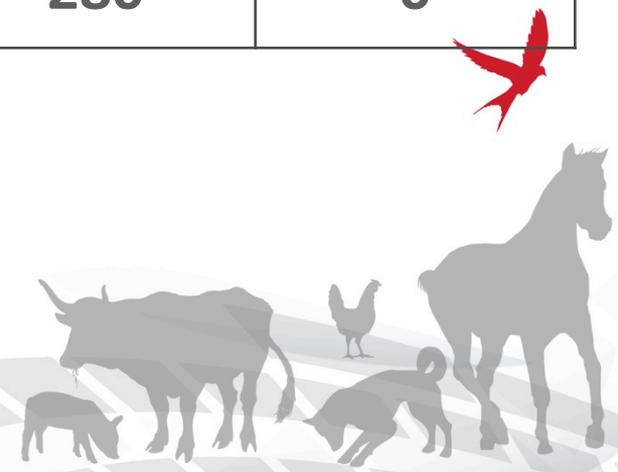
cut-off: 20% (PP%)



Risultati: Esami diretti ed indiretti per *Brucella*

SAR		FdC		c-ELISA		i-ELISA	
Neg.	Pos.	Neg.	Pos.	Neg.	Pos.	Neg.	Pos.
279	1*	280	0	280	0	280	0

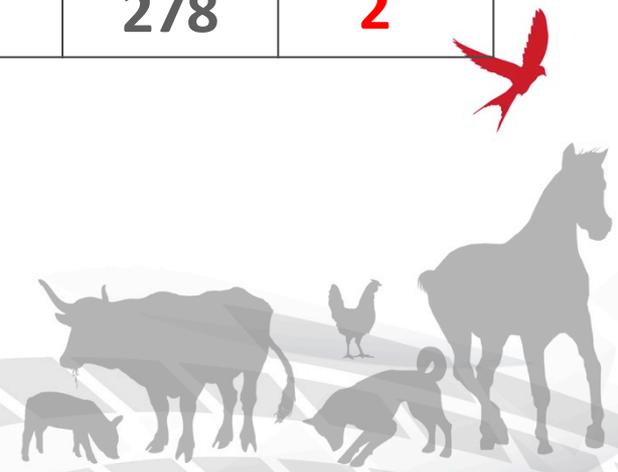
Isolam. microbiologico (milza)	
Neg.	Pos.
280	0



Risultati: Esami diretti ed indiretti per *Y. enterocolitica*

FdC	
<i>Y. enterocolitica</i> O:9	
Neg.	Pos.
280	0

Isolam. microbiologico <i>Y. enterocolitica</i> O:3			
Tonsille		Feci	
Neg.	Pos.	Neg.	Pos.
188	92	278	2*



Conclusioni

- Le analisi condotte sui 280 suini sottoposti a macellazione non hanno evidenziato la presenza di Ab verso *B. suis*. Tali dati, supportati da un isolamento microbiologico negativo dalla milza degli stessi animali, sembrano confermare l'assenza di *B. suis* nell'allevamento intensivo suino.



Conclusioni



In base ai risultati ottenuti e considerando i recenti isolamenti Italiani, ulteriori indagini dovranno essere condotte sulla popolazione di suini domestici più a rischio (allevamenti semi-bradi) e selvatici al fine di:

- **verificare il protocollo diagnostico adottato nei confronti di campioni positivi e dei cross reattivi**
- **acquisire maggiori informazioni sul quadro epidemiologico di *B. suis* in Italia**



Conclusioni

- I dati della *Y. enterocolitica* O:3 evidenziano una diffusione endemica del microrganismo nell'allevamento intensivo suino, ma rimangono da stabilire eventuali correlazioni tra le positività microbiologiche a livello di tonsille e la risposta umorale nei confronti del microrganismo



Ringraziamenti



Ministero della Salute

*Personale IZSAM coinvolto nelle attività di ricerca
(Batteriologia, Sierologia, Accettazione, Sezione diagnostica
di Pescara)*

ASL di Pescara

