



IZSAM G.CAPORALE
TERAMO



Brucellosi

Centro di Referenza Nazionale

Filogeografia ed epidemiologia delle infezioni da *Brucella suis* biovar 2
nel maiale e nel cinghiale in Europa
progetto ANIHWA BruEpidia – Grant no. 291815



Dr. Giuliano Garofolo - g.garofolo@izs.it

Risultati della ricerca corrente condotta dall'Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise "G. Caporale". Anno 2017 *Centro Internazionale per la Formazione e l'Informazione Veterinaria "Francesco Gramenzi"*



Brucellosi nei suidi

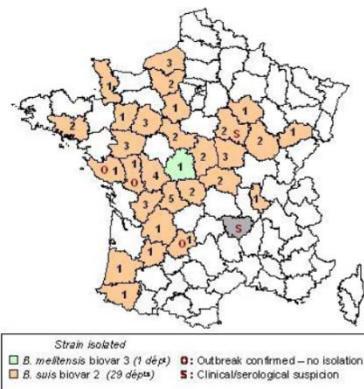


- La brucellosi suina è una delle principali malattie infettive dei suini domestici causata da *Brucella suis*.
- L'infezione porta spesso disordini riproduttivi, causando significative perdite economiche per l'industria suina in tutto il mondo.
- *B. suis* comprende 5 biovar ma solo le prime 3 infettano i suidi
- In Europa **la *Brucella suis* biovar 2** è l'agente più comune
- *B. suis* biovar 2 predilige infettare **suidi** e **lepri**
- Ma può infettare bovini e raramente l'uomo



B. suis 1,3
B. suis 2
B. suis 4
B. suis 5





The EFSA Journal (2009) 1144, 73-112

Francia - Prevalenza sierologica nel cinghiale 30%

Spagna - Prevalenza sierologica nel cinghiale 25% to 46%

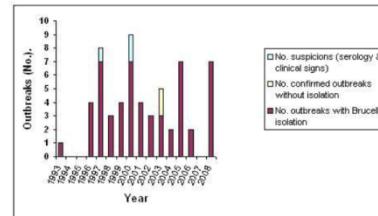
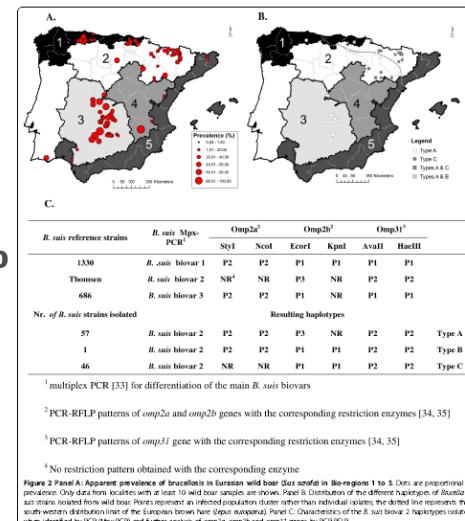


Figure 11. Outbreaks and suspicions of porcine brucellosis in France (1993-2008) (NRL data)



Muñoz PM, et al. Spatial distribution and risk factors of Brucellosis in Iberian wildungulates., BMC Infect Dis. , 10, 2010, 46

ITALIA *B. suis* biovar 2

Quaranta V., Farina R., Poli A., Cerri D. & Palazzo L. 1995. Sulla presenza di *Brucella suis* biovar 2 nella lepre in Italia. Selezione Vet, 36, 953-958

Journal of Wildlife Diseases, 45(4), 2009, pp. 1178-1181
© Wildlife Disease Association 2009

Epidemiologic Survey for *Brucella suis* Biovar 2 in a Wild Boar (*Sus scrofa*) Population in Northwest Italy

Stefania Bergagna,¹ Simona Zoppi,¹ Ezio Ferroglio,^{2,5} Mario Gobetto,³ Alessandro Dondo,² Elisabetta Di Giannatale,⁴ Maria Silvia Gennaro,¹ and Carla Grattarola¹ ¹Istituto Zooprofilattico Sperimentale di Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Torino, Italy; ²Dipartimento di Produzioni Animali, Epidemiologia ed Ecologia, Università degli Studi di Torino, Grugliasco, Italy; ³Servizio Veterinario Area "C" TO4, Torino, Italy; ⁴National Reference Centre for Brucellosis, Teramo, Italy, Studi di Torino, Grugliasco, Italy;
⁵Corresponding author (email: ezio.ferroglio@unito.it)

Journal of Wildlife Diseases, 39(3), 2003, pp. 718-722
© Wildlife Disease Association 2003

Prevalence of *Leptospira* and *Brucella* Antibodies in Wild Boars (*Sus scrofa*) in Tuscany, Italy

Valentina V. Ebani,¹ Domenico Cerri,¹ Alessandro Poli,^{1,2} and Ernesto Andreani^{1,1} Dipartimento di Patologia Animale, Profilassi ed Igiene degli Alimenti, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università di Pisa, Viale delle Piagge, 2 I-56124 Pisa, Italy; ² Corresponding author (email: apoli@vet.unipi.it)

Veterinaria Italiana, 2012, 48 (4), 397-404

Isolation of *Brucella suis* biovar 2 from a wild boar in the Abruzzo Region of Italy

Fabrizio De Massis, Andrea Di Provvido, Daria Di Sabatino, Daniela Di Francesco, Katiuscia Zilli, Massimo Ancora & Manuela Tittarelli



 Presenza *B. suis* biovar 2

 Assenza *B. suis* biovar 2





548 *B. suis* biovar 2
240 *B. suis* biovar 2 Francia
146 *B. suis* biovar 2 Spagna
123 *B. suis* biovar 2 Italia
12 Polonia
27 Romania

Materiali e Metodi

253 *B. suis* biovar 2
Germania
Ungheria
Croazia
Svizzera
Portogallo

- MLVA-16 Garofolo et al., 2013
- Analisi della performance MLVA (<http://www.comparingpartitions.info>)
- Analisi *cluster* - *categorical distance coefficient and UPGMA method*
- Test filogeografico - ANOSIM
- Whole genome sequencing and SNP analysis
- Bayesian Analysis of Population Structure
BAPS



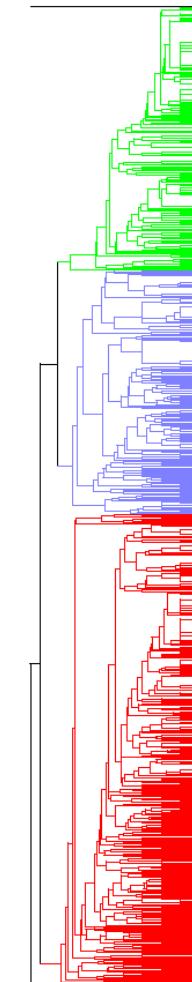
Risultati MLVA-16

11 loci (MLVA-11_{suis}): Bruce11, Bruce08, Bruce12, Bruce42, Bruce55 Bruce18, Bruce19, Bruce04, Bruce07, Bruce09 and Bruce30

Name	# partitions	Simpson's ID	CI (95%)
Bruce09	27	0,943	(0.938-0.946)
Bruce04	26	0,939	(0.934-0.942)
Bruce07	18	0,874	(0.864-0.885)
Bruce30	12	0,864	(0.853-0.874)
Bruce12	8	0,522	(0.496-0.576)
Bruce19	7	0,609	(0.586-0.658)
Bruce55	7	0,770	(0.759-0.787)
Bruce18	5	0,604	(0.581-0.645)
Bruce42	5	0,524	(0.511-0.537)
Bruce11	4	0,040	(0.013-0.056)
Bruce08	4	0,509	(0.503-0.520)
Bruce16	3	0,007	(1.000-0.017)
Bruce21	3	0,043	(0.018-0.064)
Bruce43	2	0,010	(1.000-0.022)
Bruce45	1	0,000	(0.000-0.000)
Bruce06	1	0,000	(0.000-0.000)

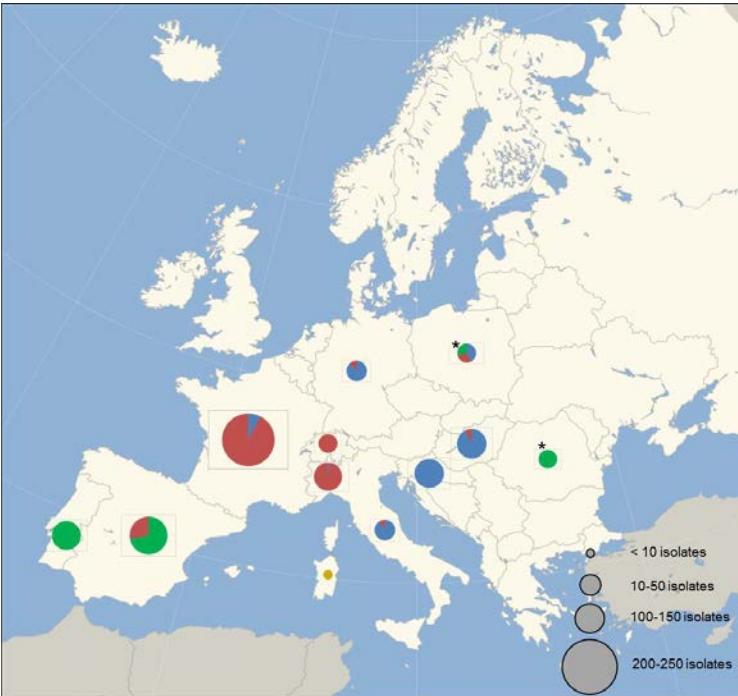
588 genotipi per 851 ceppi
Congruenza tra MLVA-16 e MLVA11_{suis} 99.5%.

MLVA-11_{suis}



Identità dei
Clade = 92.5%



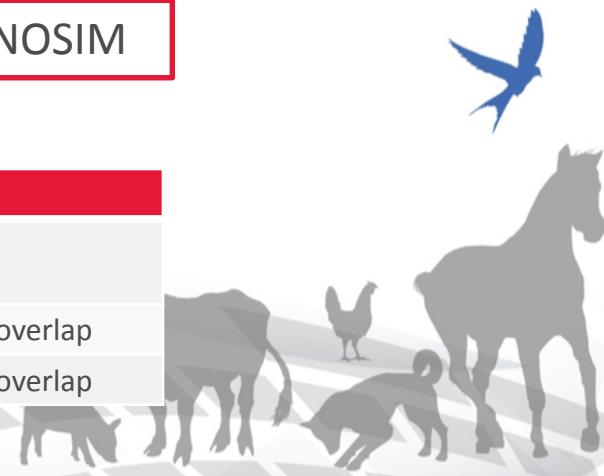


Filogeografia

-  Iberian
-  Eastern European
-  Central European
-  Sardinian

ANOSIM

Cluster	R	p value	Results
East European ↔ Iberian	0,503	0,001	Different
Central European ↔ Iberian	0,367	0,001	Different with some overlap
East European ↔ Central European	0,258	0,001	Different with some overlap





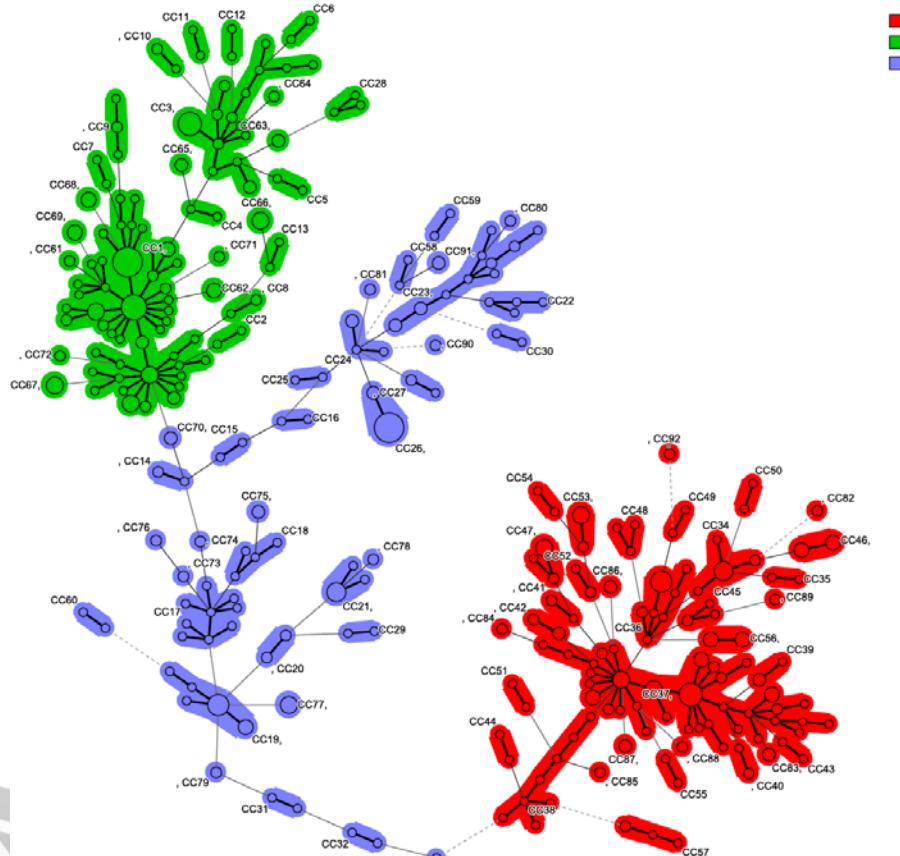
Epidemiologia molecolare

Clonal Complex (CC)
25 Iberian clade,
33 Central European
34 Eastern European

Maximum distance between nodes in same partition: 1

Minimum number of entries in a partition: 2

Minimum number of nodes in a partition: 1



Analisi complessi clonali MLVA-11 suis

Epidemiologia molecolare

9 CC sono condivisi tra nazioni

CC1 focolaio diffuso in Spagna

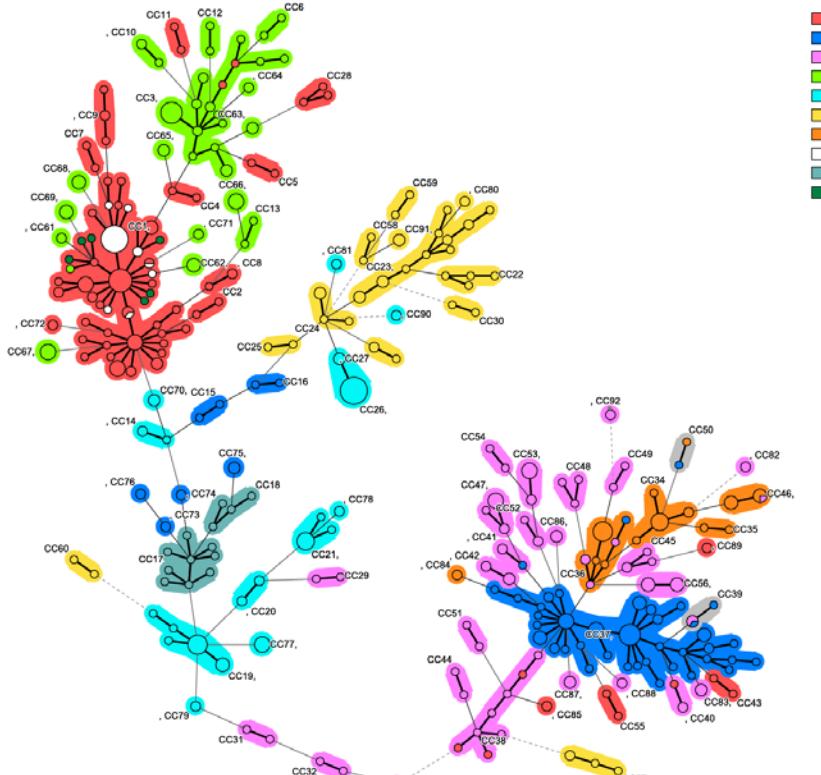
CC37 Parco Regionale “La mandria”

CC17, CC19, CC23, CC26, and CC21
Ungheria, Croazia e Germania

Maximum distance between nodes in same partition: 1

Minimum number of entries in a partition: 2

Minimum number of nodes in a partition: 1



Analisi complessi clonali MLVA-11 suis

Brucellosi
Centro di Referenza Nazionale

Epidemiologia molecolare

Lepre

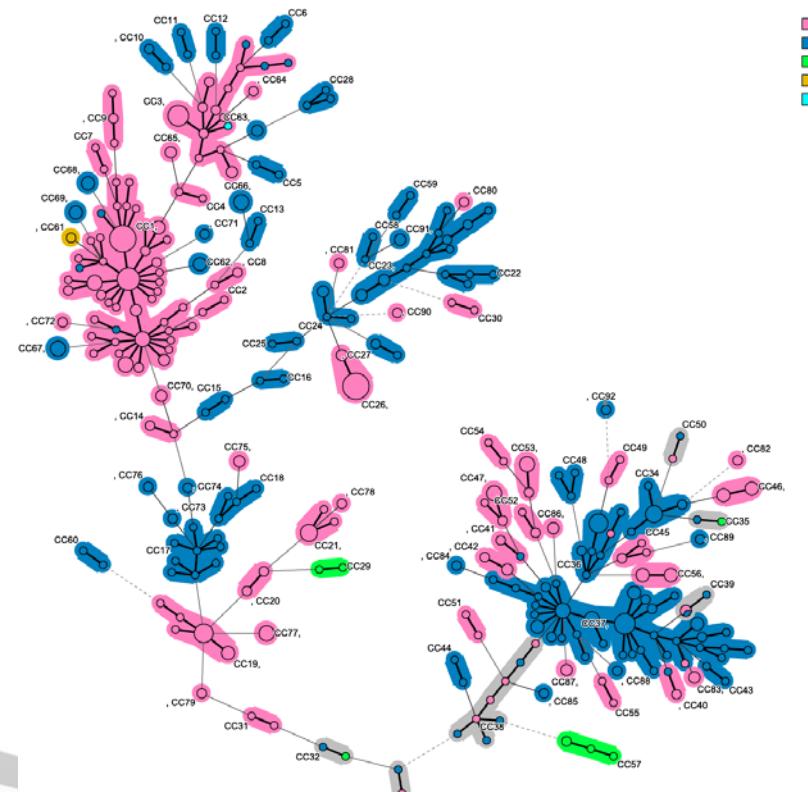
CC29 and CC57, Francia e Ungheria
CC32 and CC35 condivisi tra lepre e cinghiale



Maximum distance between nodes in same partition: 1

Minimum number of entries in a partition: 2

Minimum number of nodes in a partition: 1





Brucellosi
Centro di Referenza Nazionale

Whole genome sequencing SNP analisys

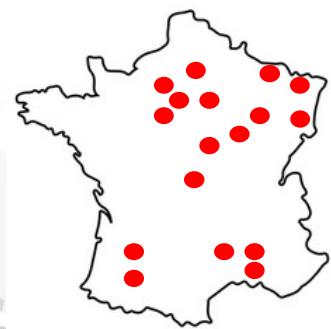
52 *B. suis* bv 2 (central european, eastern european, Iberian, Sardinian)

22 genomi from GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/genomes/806?>)

SNPs coverage > 30X

SNPs proporzione > 90%

B. suis biovar 2 strain ATCC 23445 (GenBank Accession Numbers NC_010169.1; NC_010167.1)



SNP analysis ha ritrovato
3,838 SNPs.
Indice di consistenza 0.993.

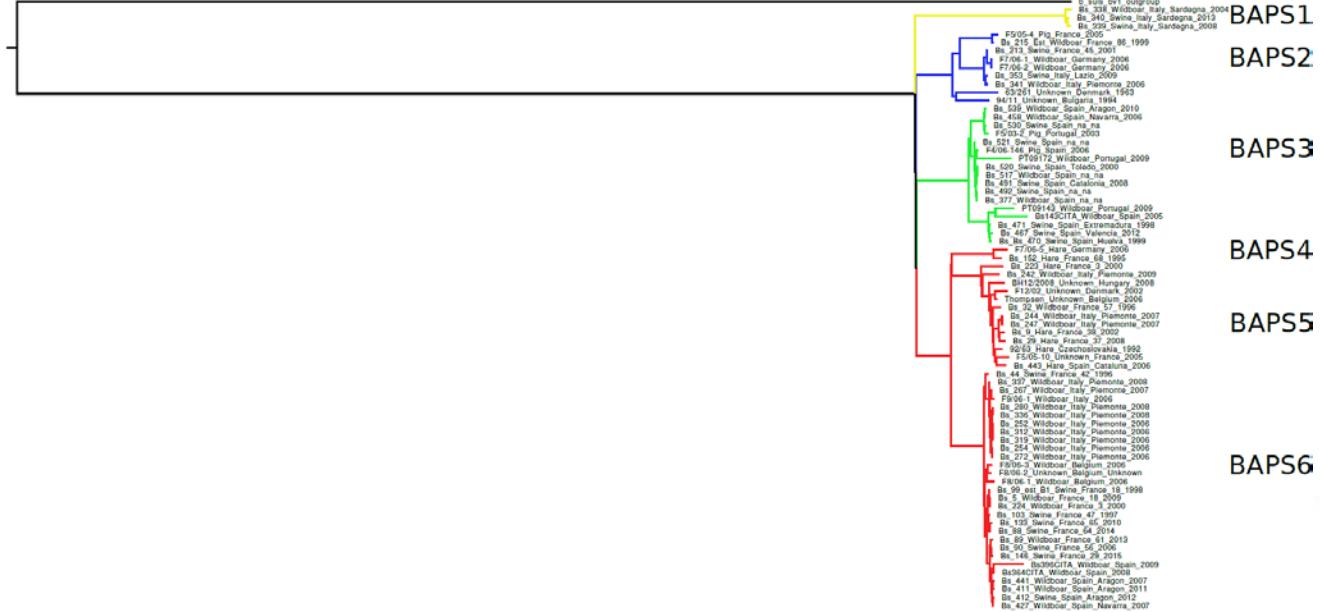




IZSAM G.CAPORALE
TERAMO

Brucellosi
Centro di Referenza Nazionale

Whole genome sequencing SNP analisys



BAPS1 Sardinian

BAPS2 Eastern European

BAPS3 Iberian

BAPS4 Central European - Lepre

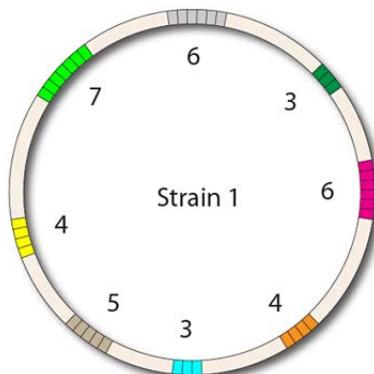
BAPS5 Central European

BAPS6 Central European

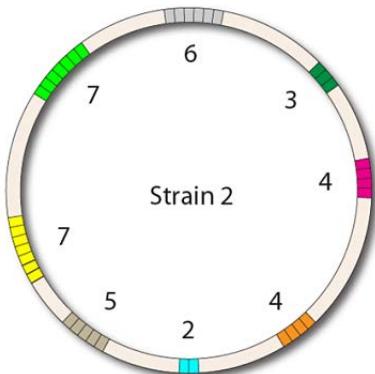


Discussione e Conclusioni

- MLVA11_{suis} è un metodo di tipizzazione che può sostituire il metodo MLVA-16



MLVA profile of strain 1: 6-3-6-4-3-5-4-7
MLVA profile of strain 2: 6-3-4-4-2-5-7-7

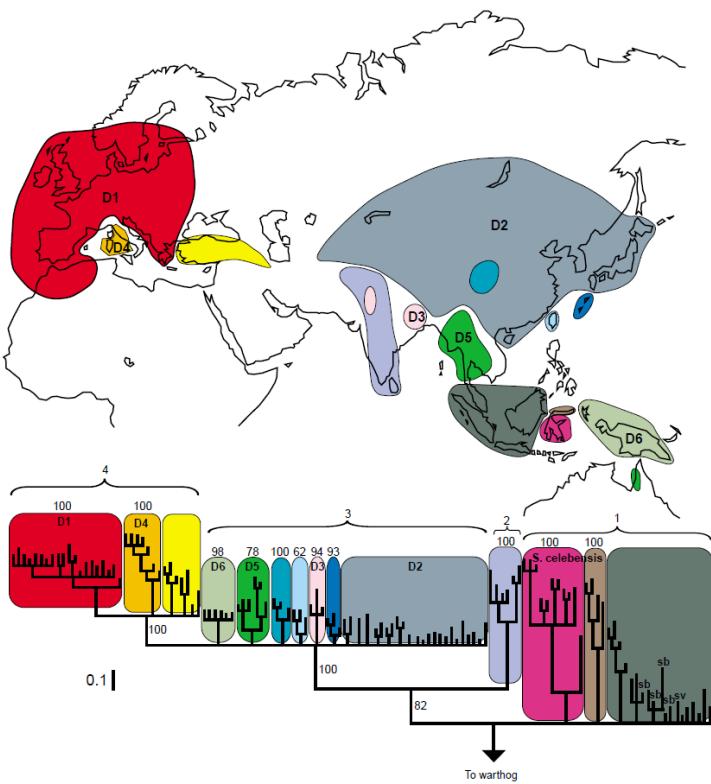


Discussione e Conclusioni

Worldwide Phylogeography of Wild Boar Reveals Multiple Centers of Pig Domestication

REPORTS

Fig. 1. Bayesian (MCMC) consensus tree of 122 *Sus* mtDNA control region haplotypes rooted by a common warthog (*Phacochoerus aethiopicus*). A total of 14 clusters (represented by a specific color and corresponding region on the Eurasian map) are contained within four major clades on the tree (1 to 4). Tips associated with the island of Sulawesi represent the native wild boar *Sus celebensis*. All other tips represent wild *Sus scrofa* unless indicated by the following two-letter codes: sb, *Sus barbatus*; sv, *Sus verrucosus*. D1 to D6 represent suggested centers of domestication. D1 to D3 indicate areas where native wild boar have haplotypes identical to those of domestic pigs from the same region. Additional details are given in fig. S1.



Metapopolazioni di Cinghiale

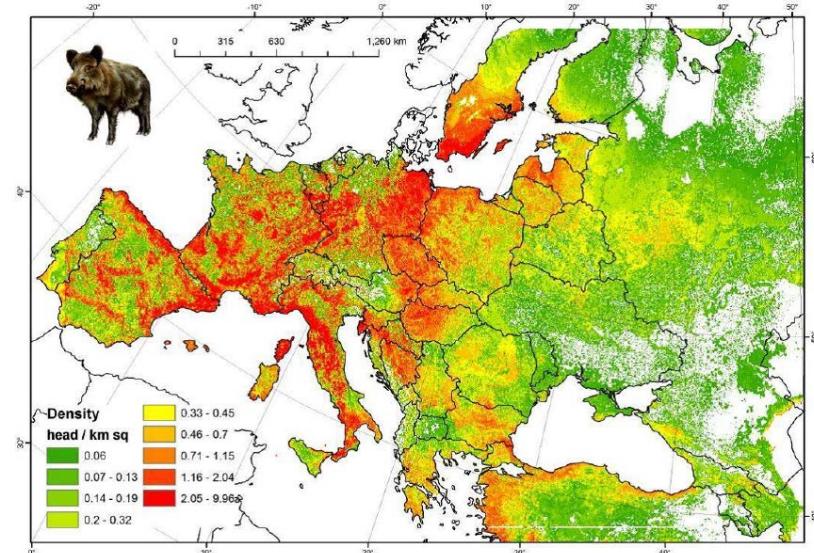


Figure 3: Modelled wild boar population density in Europe (source: FAO/ASFORCE, May 2015)





IZSAM G.CAPORALE
TERAMO

Brucellosi
Centro di Referenza Nazionale



Discussione e Conclusioni

ANOSIM ($R = 0.835; P = 0.001$)

Central European
Eastern European
Sardinian



ISTITUTO NAZIONALE PER LA FAUNA SELVATICA

5

BIOLOGIA E GESTIONE
DEL CINGHIALE

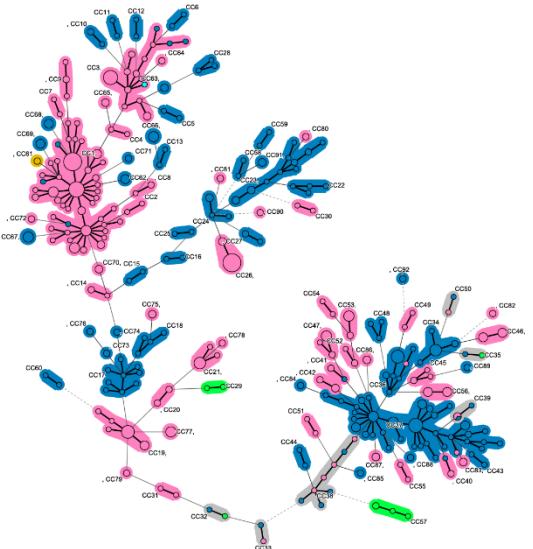


Discussione e Conclusioni



La maggior parte degli isolati di *B. suis* biovar 2 di lepri non appartenevano a nessun CC.
Quale è il ruolo della lepre?

- 1- Epigenetica
- 2- GWAS per BAPS2





IZSAM G. CAPORALE
TERAMO

 Brucellosi
Centro di Referenza Nazionale



BATTERIOLOGIA

Elisabetta Di Giannatale
Katiuscia Zilli
Anna Janowicz
Lorena Sacchini
Alessandra Alessiani
Tiziana Persiani

COVEPI

Fabrizio De Massis
Paolo Calistri

DIAGNOSTICA

Massimo Scacchia
Andrea Di Provvido
Daniela Averaimo
Giovanni Foschi

RICERCA E SVILUPPO

Cesare Cammà
Massimo Ancora
Marco Di Domenico
Maurilia Marcacci

Ringraziamenti

 anses

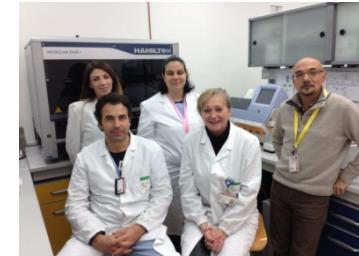
 cita



 anihwa
Animal Health and Welfare ERA-Net



 Ministero della Salute



BIOINFORMATICA

Adriano Di Pasquale
Massimiliano Orsini
Claudio Patavino
Antonio Rinaldi

SIEROLOGIA

Manuela Tittarelli
Barbara Bonfini
Flavio Sacchini

