

**ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DELLE REGIONI LAZIO E
TOSCANA**

SEZIONE DI RIETI - (1 IMS)

Dr. Pietro Calderini (Responsabile scientifico)

“Caratterizzazione molecolare di *Toxoplasma gondii* in Italia Centrale: nuove acquisizioni relative al rischio da consumo di carne cruda.”

**Relazione intermedia della Ricerca Corrente codice progetto:
IZS LT 0116 (Anno finanziario 2016)
Scadenza del Progetto 30/09/2019**

“Ricerca finanziata dal Ministero della Salute”

SINTESI

“Caratterizzazione molecolare di *Toxoplasma gondii* in Italia Centrale: nuove acquisizioni relative al rischio da consumo di carne cruda.”

La toxoplasmosi è un'infezione zoonotica cosmopolita di animali a sangue caldo, uomo incluso. L'agente eziologico (*Toxoplasma gondii*) vive nei tessuti di prede erbivori e dei predatori carnivori ospiti intermedi, completa il suo ciclo vitale nell'ospite definitivo rappresentato da un felide nel quale si ha la riproduzione sessuale intestinale.

Come ospite intermedio, l'uomo può acquisire l'infezione o per ingestione accidentale di oocisti eliminate tramite feci di felini e presenti sul terreno, verdura, acqua o con l'ingestione di carni crude (prodotte da animali zootecnici) che contengono bradizoiti o per la trasmissione verticale da tachizoiti.

La carne cruda sembra essere una delle principali fonti di infezioni da *T. gondii* in Europa, e come riscontrato in uno studio europeo, il 30-63% delle infezioni nelle donne in gravidanza è stato attribuito alla carne, mentre dal 6 al 17% sembrerebbero originare dalla contaminazione del terreno (Cook et al., 2000).

Per ottenere un quadro più chiaro circa il ruolo della carne come fonte di infezione umana con *T. gondii* è importante avere una indicazione precisa sulla presenza di cisti tissutali infettive nelle specie animali allevate per la produzione di carne. Questo è generalmente studiato mediante dosaggi sierologici, e la sieroprevalenza di infezione *T. gondii* nel bestiame allevato all'aperto (ad esempio, pecore e bovini) risulta generalmente più alta, mentre la sieroprevalenza in bestiame allevato al chiuso (ad esempio, i suini allevati al chiuso) è più bassa (Kijlstra e Jongert, 2008). Tuttavia, l'individuazione di anticorpi anti *T. gondii* in animali non fornisce necessariamente una buona indicazione della presenza di cisti tissutali infettive e il rischio di infezione umana. Anche se in teoria dovrebbe esserci una forte correlazione, in quanto entrambi gli anticorpi e le cisti tissutali si presume persistano a lungo in ovini e suini (Dubey, 2009).

Le metodiche biomolecolari dovrebbero essere considerate come metodiche di riferimento, nel caso della toxoplasmosi hanno però lo svantaggio di essere poco sensibili perché le cisti tissutali potrebbero essere rade, addirittura al di sotto di una cisti per 50 gr di tessuto, e quindi fornire esiti falsamente negativi. Per ovviare a questo problema si ricorre ad una metodica di immunocentrificazione delle cisti di *T. gondii* descritta da Opsteegh M et al, (2010) che sembrerebbe maggiormente sensibile rispetto a quello che si registra utilizzando topi da laboratorio.

In questo studio sono stati presi in considerazione gli animali produttori di alimenti edibili, tutti ospiti intermedi della toxoplasmosi, e non verranno invece analizzati gatti e felidi ospiti definitivi del protozoo.

Scopo della ricerca è quello di studiare presenza e prevalenza di *T. gondii* negli animali domestici allevati, in maniera non intensiva, per la produzione di carne in aree selezionate della Regione Lazio, valutazione dell'importanza di ciascuna delle specie animali considerate come fonte di infezione per gli esseri umani, studio delle variazioni di geni target tra *T. gondii* isolati da animali domestici commestibili e gli esseri umani, al fine di valutare il rischio di infezione ed identificazione dei genotipi circolanti nella Regione.

Sono stati analizzati i tessuti muscolari di 92 equidi regolarmente macellati nei mattatoi della Provincia di Rieti per la ricerca sierologica e biomolecolare.

Sono stati inoltre analizzati 268 campioni di siero ovino, in un gregge con anamnesi di aborti, per la ricerca degli anticorpi contro *T. gondii* con la metodica ELISA; dopo l'esecuzione dell'esame sierologico i coaguli residui sono stati subito congelati per la ricerca biomolecolare dei tachizoiti.

Su 72 animali appartenenti a specie produttrici di carne, inviati per la determinazione della causa di morte, sono stati prelevati campioni di organi (encefalo, cuore e polmone) per la ricerca istologica di cisti di *T. gondii*.

Per la popolazione umana sono stati considerati 97 pazienti con infezione da HIV afferenti al Policlinico di Roma “*Umberto I*” e 98 soggetti sani appaiati per sesso ed età, che hanno effettuato donazione volontaria di sangue nel periodo di osservazione. I due gruppi sono stati sottoposti ad indagini sierologiche e biomolecolari.

La ricerca degli anticorpi specifici di *T. gondii* con ELISA indiretto in estratti di carne da 92 cavalli macellati in provincia di Rieti ha mostrato le seguenti prevalenze: 19% positivi e 6,7% dubbi.

Per quanto riguarda gli esiti ottenuti dai sieri di un gregge ovina della quale sono stati analizzati 268 campioni hanno dato i seguenti esiti: 7,6% positivi e 3,2% positivi.

Sono risultati tutti negativi gli esiti dell’istologico e delle prove molecolari dalle matrici animali analizzate.

Dei pazienti HIV 2 sono risultati positivi alla PCR per toxoplasmosi.

Complessivamente con gli esiti ottenuti si conferma il rischio di toxoplasmosi in seguito a consumo di carne cruda o poco cotta per il riscontro di positività sierologiche osservate sia dalla carne cruda di cavallo che dai sieri di capre con anamnesi di aborti da toxoplasmosi. In considerazione della negatività riscontrata in tutte le matrici animali considerate, già risultate positive alla prova sierologica, si conferma inoltre la necessità di ricorrere alla metodica descritta da Opsteegh M et al. (2010), la Magnetic-capture polymerase chain reaction (MC-PCR), ad oggi considerata la tecnica di riferimento per la corretta individuazione delle cisti di *T. gondii* nei tessuti. Il mancato riscontro di positività nelle matrici animali non ha permesso di eseguire un confronto con i genotipi circolanti nella popolazione umana.

Bibliografia

Cook AJ, Gilbert RE, Buffolano W, Zufferey J, Petersen E, Jenum PA, Foulon W, Semprini AE, Dunn DT. 2000. Sources of *Toxoplasma* infection in pregnant women: European multicentre case-control study. European Research Network on Congenital Toxoplasmosis. British Medical Journal, 321(7254), 142–147.

Dubey J.P. 2009 Toxoplasmosis in pigs-the last 20 years Vet. Parasitol., 164, pp. 89-103

Kijlstra, A., Jongert, E. 2008 Control of the risk of human toxoplasmosis transmitted by meat. International Journal for Parasitology, 38, 1359-1370.

Opsteegh M, Teunis P, Zuchner L, Koets A, Langelaar M, van der Giessen J. 2011. Low predictive value of seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in cattle for detection of parasite DNA. International Journal for Parasitology, 41(3–4), 343–354.

U.O. 1 IMS, IZSLT Sez. Rieti, Pietro Calderini:
pietro.calderini@izslt.it.

U.O. 2 IMS, IZSLT Sede Centrale Roma, Claudia Eleni:
claudia.eleni@izslt.it.

U.O. 1 EMS, Università “La Sapienza” Roma, Simona Gabrielli:
simona.gabrielli@uniroma1.it.

Pietro Calderini, Alessandra Tolomei, Rita Fanelli, Miriam Polidori, Stefano Aragno, Claudia Eleni, Simona Gabrielli. 2019 “Caratterizzazione molecolare di *Toxoplasma gondii* in Italia Centrale: nuove acquisizioni relative al rischio da consumo di carne cruda.”

Parole chiave: toxoplasmosi, carne cruda, diagnosi, valutazione del rischio