



Istituto Zooprofilattico Sperimentale  
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

## ZOONOSI: EPIDEMIOLOGIA, SORVEGLIANZA E CONTROLLO

### Focus su alcuni degli agenti zoonosici batterici più rilevanti per la Sanità Pubblica e la Sanità Pubblica Veterinaria



IZSLT– I, II, III edizione 2021

**Andrea Caprioli**

ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DEL LAZIO E DELLA TOSCANA “M. ALEANDRI”

*Unità Operativa Complessa Diagnostica Generale (U.O.C. D.O. DIG)*

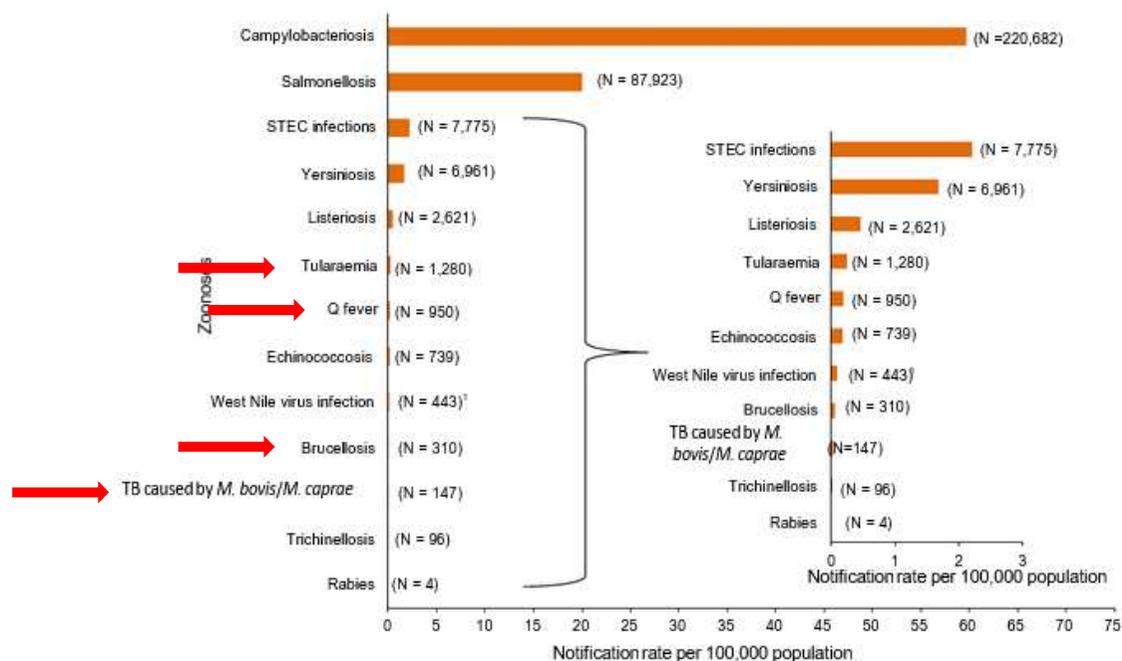


## The European Union One Health 2019 Zoonoses Report

European Food Safety Authority  
European Centre for Disease Prevention and Control



EU One Health Zoonoses Report 2019



Results of zoonoses monitoring activities carried out in 2019 in **36 European countries** (28 Member States (MS) and 8 non-MS).

Note: The total number of confirmed cases is indicated between parentheses at the end of each bar.  
<sup>1</sup> Exception: West Nile virus infection for which the total number of cases was used.

Figure 1: Reported numbers and notification rates of confirmed human zoonoses in the EU, 2019



## Centro di Riferimento bi-regionale Agenti Zoonosici Speciali

Presso la sede centrale dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana M. Aleandri (IZSLT), all'interno della Direzione Operativa Diagnostica Generale, opera il Centro di Riferimento bi-regionale Agenti Zoonosici Speciali allo scopo di implementare e rendere operativo quanto disposto dalla Delibera 9 maggio 2003, n. 414 della Regione Lazio circa il potenziamento della Struttura Complessa Diagnostica Generale, in relazione agli agenti biologici zoonosici di particolare rilevanza in Sanità Pubblica Veterinaria.

<http://www.izslt.it>

The screenshot shows a web browser window displaying the website [www.izslt.it](http://www.izslt.it). The browser's address bar shows the URL `www.izslt.it/centri-di-riferenza/centri-di-eccellenza/`. The website's header includes a navigation menu with items: QUALITÀ, LINK INTERNI, CONVENZIONI, RICERCA, FORMAZIONE INTERNA, VERBALI OIV, and PROFILO. Below the header is the IZSLT logo and the text "Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana M. Aleandri". A secondary navigation bar contains: HOME, AMMINISTRAZIONE, DOMANDE FREQUENTI, VALUTA I NOSTRI SERVIZI, DOVE SIAMO, and CONTATTI. A left-hand navigation menu lists various categories, with "CENTRI DI REFERENZA" highlighted in a red box. Under "CENTRI DI REFERENZA", the sub-items "Centri di Riferenza Nazionali" and "Altri centri specialistici" are also highlighted in a red box. The main content area features a banner image of sheep and a section titled "ALTRI CENTRI SPECIALISTICI" in a blue header. This section contains text about specialized centers and a list of centers in Rome, Lazio, including the "Centro di Riferimento Agenti Zoonosici Speciali", which is highlighted in a red box. The Windows taskbar at the bottom shows the search bar, taskbar icons, and system tray with the date 23/10/2018 and time 10:19.

File Modifica Visualizza Cronologia Segnalibri Strumenti Aiuto

avicolas@yahoo.com - Yah... ProMED-mail B\_anthraxis1.jpg (immagin... IZSLT - SIL One\_Health\_Triad.jpg (imm... SINVSA... bacillus anthracis - Cerca c... Qualita - Istituto Zooprofilattico Istituto Zooprofilattico Sperim...

www.izslt.it/centri-di-riferenza/centri-di-eccellenza/ 133%

Più visitati IZSLT - SIL Yahoo - accesso Skype Sistema Informativo V...

I miei siti Istituto Zooprofilattico Sperimentale de... Ciao, Andrea Caprioli

QUALITÀ LINK INTERNI CONVENZIONI RICERCA FORMAZIONE INTERNA VERBALI OIV PROFILO

**izs** Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana M. Aleandri

HOME AMMINISTRAZIONE DOMANDE FREQUENTI VALUTA I NOSTRI SERVIZI DOVE SIAMO CONTATTI

L'ISTITUTO

LE SEDI

**CENTRI DI REFERENZA**

Centri di Riferenza Nazionali

**Altri centri specialistici**

SERVIZI E MODULISTICA

FORMAZIONE E BIBLIOTECA

OSSERVATORIO EPIDEMIOLOGICO

RICERCA E COOPERAZIONE INTERNAZIONALE

SICUREZZA ALIMENTARE

SANITÀ E BENESSERE ANIMALE

COMUNICAZIONE

NEWS

**ALTRI CENTRI SPECIALISTICI**

A livello territoriale operano centri specialistici su specifiche materie, soprattutto a valenza regionale. Rappresentano unità dove vengono svolte attività specialistiche in settori individuati dalle amministrazioni regionali o dagli istituti stessi.

**Presso la sede di Roma dell'Istituto sono presenti i seguenti centri riconosciuti dalla Regione Lazio:**

- Centro di Riferimento regionale per gli Enterobatteri Patogeni
- Osservatorio Epidemiologico Veterinario Regionale
- Centro Studi per la Sicurezza Alimentare
- Centro di Riferimento Agenti Zoonosici Speciali**

**Sono inoltre presenti le seguenti unità specialistiche**

- Il Centro di Medicina Integrata Veterinaria presso la sezione di Arezzo
- L'Unità operativa di Apicoltura presso la sede di Roma
- Laboratorio di Ittiopatologia ed acquacoltura, presso la sezione di Pisa

Indirizzo

10:19 23/10/2018

HOME
BRUCELLOSI
TUBERCOLOSI BOVINA E BUFALINA
CARBONCHIO EMATICO (ANTRACE)
FEBBRE Q
CLAMIDIOSI/PSITTACOSI
MORVA
TULAREMIA
E. COLI VEROCITOTOSSICI (STEC O VTEC)
CAMPYLOBACTER TERMOTOLLERANTI ZONOSICI E SALMONELLA SPP.
ALTRE ZONOSI
SORVEGLIANZA DI AGENTI BIOLOGICI POTENZIALMENTE UTILIZZATI A FINI DI BIOTERRORISMO
CONTATTI
<b>NEWSLETTER</b>
Nome



### CENTRO DI RIFERIMENTO BI-REGIONALE AGENTI ZONOSICI SPECIALI

Presso la sede centrale dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana M. Aleandri (IZSLT), all'interno della Direzione Operativa Diagnostica Generale, opera il **Centro di Riferimento bi-regionale Agenti Zoonosici Speciali** allo scopo di implementare e rendere operativo quanto disposto dalla Delibera 9 maggio 2003, n. 414 della Regione Lazio circa il potenziamento della Struttura Complessa Diagnostica Generale, in relazione agli agenti biologici zoonosici di particolare rilevanza in Sanità Pubblica Veterinaria.

#### Attribuzioni:

Il Centro di Riferimento, nell'ambito regionale di sua competenza (Regioni Lazio e Toscana), ha il compito di:

- eseguire, implementare e consolidare le attività relative alla diagnosi ed alla caratterizzazione di agenti zoonosici classificati nel gruppo di pericolo 3 (*es. Brucella spp., Mycobacterium tuberculosis complex, Bacillus anthracis* -agente eziologico del carbonchio ematico (antrace nell'Uomo)-, *Francisella tularensis* - agente eziologico della tularemia-, *E. coli verocitotossici Enteroemorragici -EHEC- come E. coli O157, Burkholderia mallei* -agente eziologico della morva-), anche attraverso tecniche di diagnosi e caratterizzazione biomolecolari;
- eseguire, implementare e consolidare le attività relative alla diagnosi, nelle fasi della produzione primaria, ed alla caratterizzazione di altri agenti zoonosici di maggior impatto in Sanità Pubblica Veterinaria (*es. Campylobacter zoonosici, Chlamydiaceae* -agenti eziologici di clamidiosi/psittacosi-, *Coxiella burnetii* -agente eziologico della Febbre Q-, *Yersinia spp.*, ceppi di *Staphylococcus aureus particolarmente virulenti, MRSA, Salmonella spp.*, etc.), anche attraverso tecniche di diagnosi e caratterizzazione biomolecolari approfondite per scopi di epidemiologia molecolare, tracing back, source attribution;
- fornire consulenza, supporto tecnico-scientifico ed expertise alle Autorità Competenti del Sistema Sanitario Nazionale, Regionale, Locale (Ministero della Salute, Regione, ASL) in termini di: gestione di focolai legati alle suddette infezioni, sorveglianza, valutazioni epidemiologiche e di controllo, produzione di pareri tecnico-operativi e stesura di linee guida, supporto degli obiettivi di Sanità Pubblica Veterinaria;
- collaborare e coordinarsi con gli Osservatori Epidemiologici Veterinari Regionali e con gli altri laboratori dell'IZSLT nell'ambito delle attività sopra elencate;
- perseguire un continuo adeguamento delle risorse tecnico-scientifiche, gestionali ed aggiornamento delle metodiche di laboratorio di competenza e delle Procedure Operative, secondo Standards Internazionali correnti (*es. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals* <http://www.oie.int/standard-setting/terrestrial-manual/access-online/>);
- sviluppare e condurre attività di ricerca e di formazione-informazione sui temi/ambiti di competenza.

Il Centro di riferimento, nelle sue attività, opera a vantaggio della Sanità Animale e della Sanità Pubblica Veterinaria, in una prospettiva di "One Health", avvalendosi della collaborazione di una rete nazionale, principalmente costituita dalla rete degli Istituti Zooprofilattici Sperimentali (IIZZSS),

**Nel menu' sono riportate le specifiche attività svolte relativamente alle malattie sostenute dai singoli agenti zoonosici**

**Il Centro di Riferimento, nell'ambito regionale di sua competenza (Regioni Lazio e Toscana), ha il compito di:**



- eseguire, implementare e consolidare le attività relative alla **diagnosi ed alla caratterizzazione di agenti zoonosici classificati nel gruppo di pericolo 3** (es. *Brucella spp.*, *Mycobacterium tuberculosis complex*, *Bacillus anthracis* –agente eziologico del carbonchio ematico (antrace nell'Uomo)-, *Francisella tularensis* – *Coxiella burnetii*, etc...

## Il Centro di Riferimento, nell'ambito regionale di sua competenza (Regioni Lazio e Toscana), **ha il compito di:**

- Fornire consulenza, supporto tecnico-scientifico ed expertise alle Autorità Competenti del Sistema Sanitario Nazionale, Regionale, Locale (Ministero della Salute, Regione, ASL) in termini di: gestione di focolai legati alle suddette infezioni, sorveglianza, valutazioni epidemiologiche e di controllo, produzione di pareri tecnico-operativi e stesura di linee guida, supporto degli obiettivi di Sanità Pubblica Veterinaria,



## Il Centro di Riferimento, nell'ambito regionale di sua competenza (Regioni Lazio e Toscana), **ha il compito di:**

- perseguire un **continuo adeguamento** delle risorse tecnico-scientifiche, gestionali ed aggiornamento delle metodiche di laboratorio di competenza e delle Procedure Operative, secondo Standards Internazionali correnti (es. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals <http://www.oie.int/standard-setting/terrestrial-manual/access-online/>);
- sviluppare e **condurre attività di ricerca e di formazione-informazione** sui temi/ambiti di competenza.



## Il Centro di Riferimento, nell'ambito regionale di sua competenza (Regioni Lazio e Toscana)

Nelle sue attività, opera a vantaggio della **Sanità Animale e della Sanità Pubblica Veterinaria**, in una prospettiva di **“One Health”**, avvalendosi della collaborazione di una rete nazionale, principalmente costituita dalla **rete degli Istituti Zooprofilattici Sperimentali (IZZSS)**, dei Centri di Referenza Nazionali per gli agenti batterici zoonosici, ed in collaborazione con l'Istituto Superiore di Sanità.



## Il Centro di Riferimento, nell'ambito regionale di sua competenza (Regioni Lazio e Toscana)

Gestisce, inoltre, le attività di **diagnosi diretta e di sorveglianza di agenti biologici di Classe pericolo 3 potenzialmente utilizzati a fini di bioterrorismo** (es. *Bacillus anthracis*, *Francisella tularensis*).



## Focus su alcuni degli agenti zoonosici batterici

### ➤ **Brucellosi**

### ➤ **Tuberculosi (TBC)**

#### Rilevanti per:

- ✓ Sanità Pubblica (zoonosi)
- ✓ Sanità animale
- ✓ Scambi e commercio nazionale ed internazionale
- ✓ Causano rilevanti danni economici

### ➤ In Italia soggette ad **eradicazione**!!! Denunciabili!

- Brucellosi: Decreto Ministeriale 15 Dicembre 1994, n. 651; Decreto Ministeriale 15 Dicembre 1992, n. 453
- Tuberculosi: Decreto Ministeriale 15 dicembre 1995, n. 592

# Brucellosi

- Nell'uomo anche conosciuta come febbre ondulante, febbre maltese o febbre del Mediterraneo.
- Colpisce diverse specie animali fra cui: bovini, ovi-caprini, suini, cani, animali selvatici e animali marini.

# Brucellosi

## Distribuzione

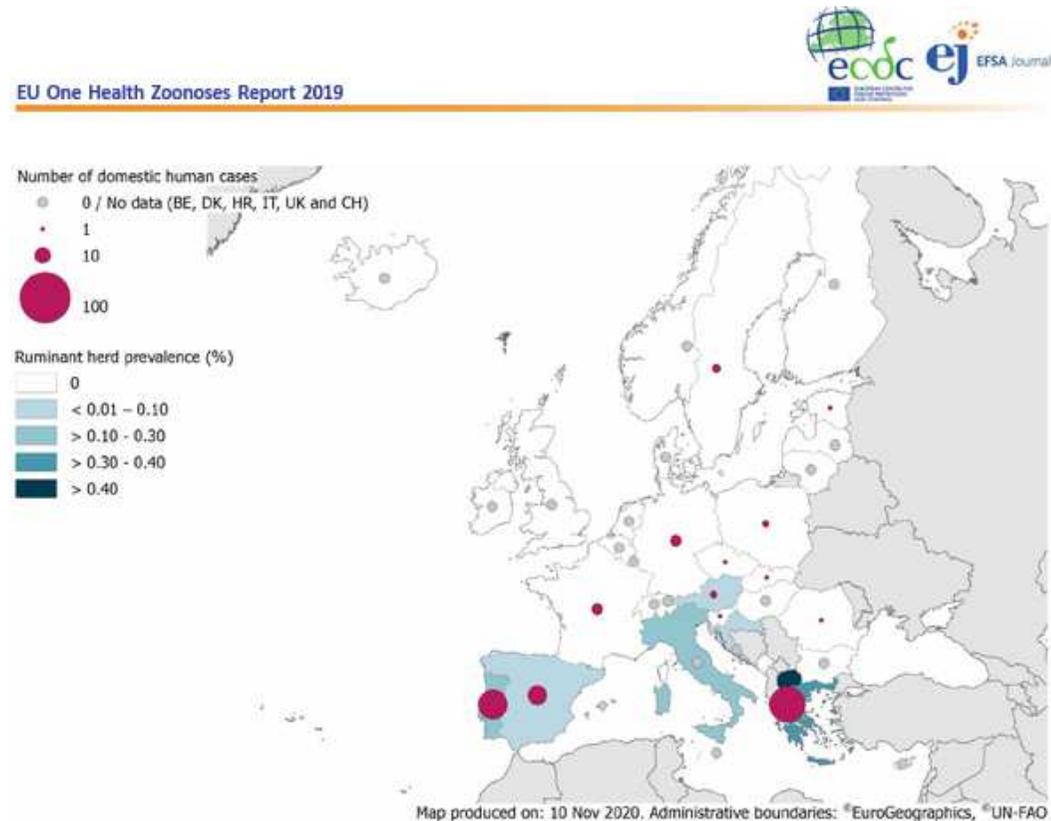
- **Mondiale**

soprattutto è diffusa nei paesi del Mediterraneo, in India, Africa, nell'Asia centrale e in America Latina.

- **Eradicata in alcuni paesi**

# Brucellosi in Europa-EFSA 2019

- Casi umani notificati in Europa **0.06 su 100.000 abitanti**, il più basso valore da quando si raccolgono I dati.
- Greece (0.61 cases per 100,000 population), Portugal (0.32), **Italy (0.08)**.



**Figure 38:** Number of domestically acquired confirmed brucellosis cases in humans and prevalence of *Brucella* test-positive cattle herds and sheep and goat flocks, EU/EFTA, 2019

# Brucellosi-EFSA 2019

## Allevamenti bovini positivi

EU One Health Zoonoses Report 2019

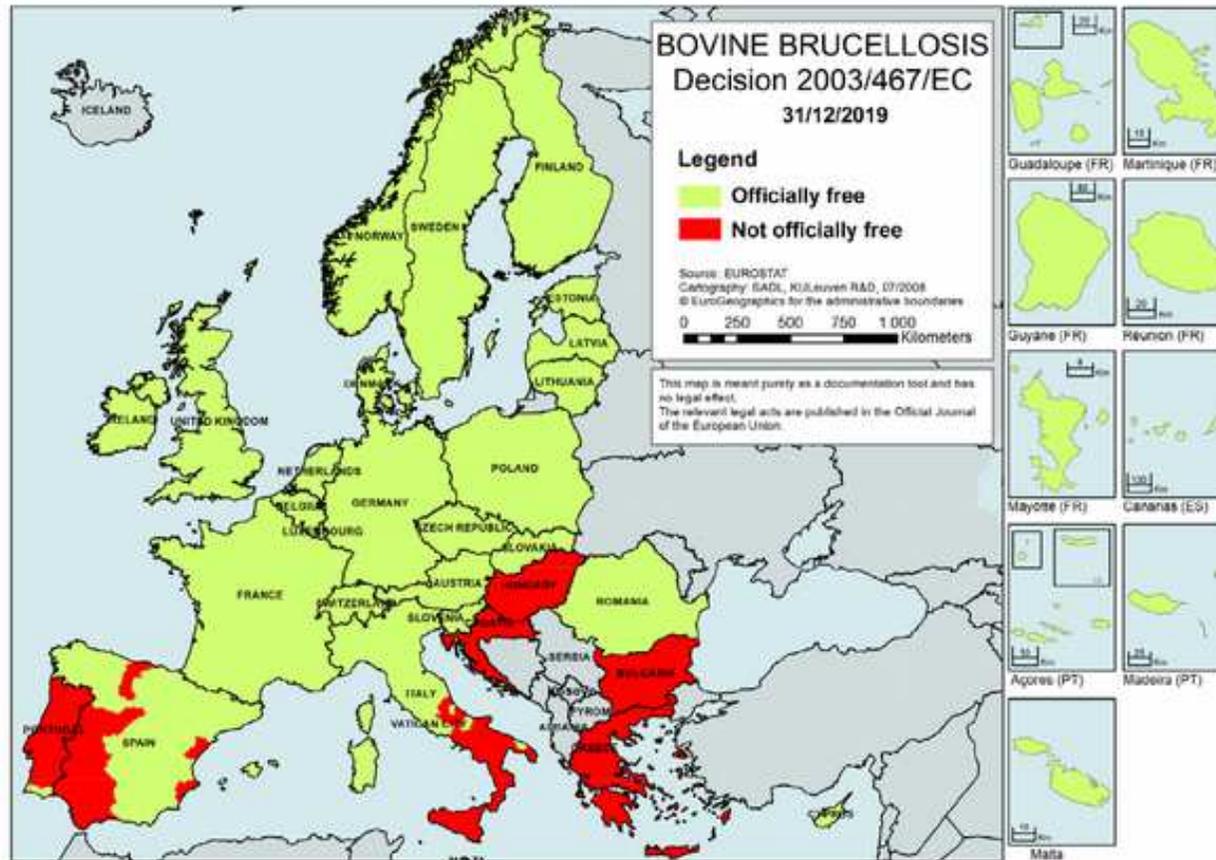


Figure 39: Status of countries on bovine brucellosis, EU/EEA, 2019<sup>16</sup>

# Brucellosi-EFSA 2019

## Allevamenti ovi-caprini positivi



EU One Health Zoonoses Report 2019

*B. abortus*, *B. melitensis* or *B. suis*. Montenegro and the Republic of North Macedonia also reported data on brucellosis in their sheep and goat flocks.

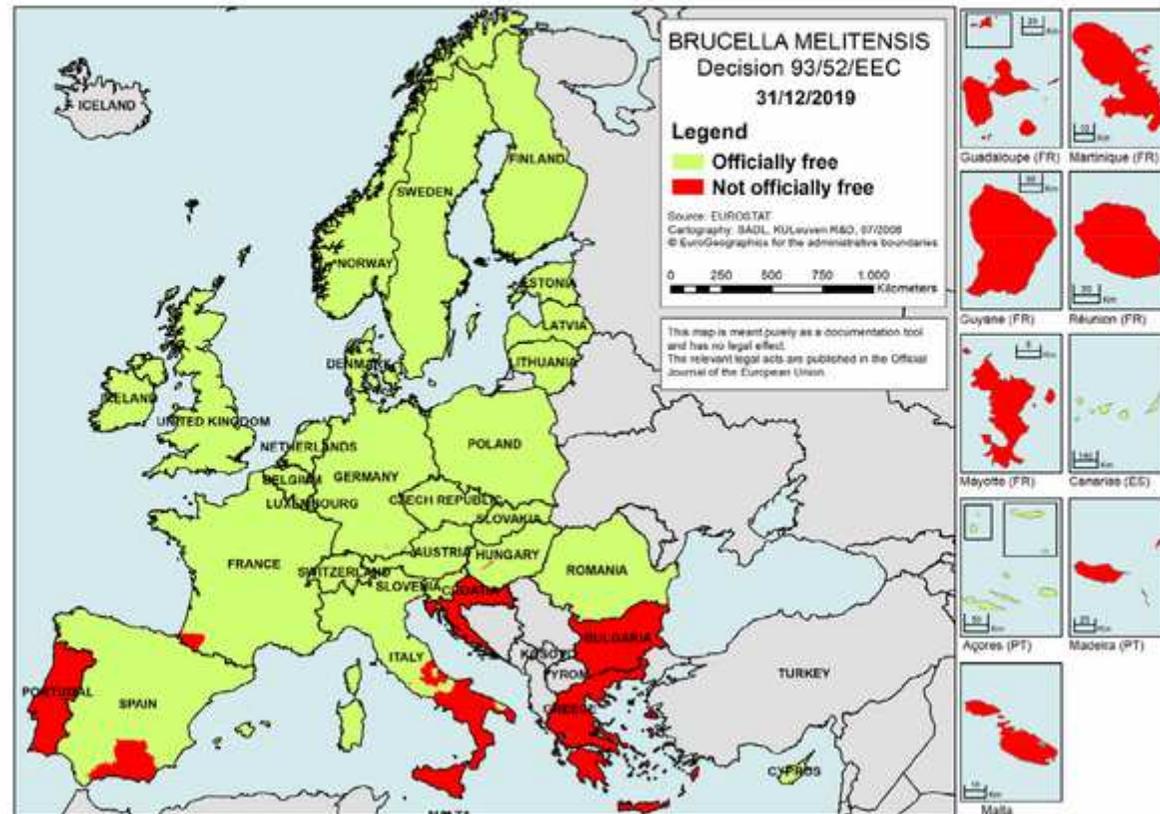


Figure 42: Status of countries on ovine and caprine brucellosis, EU/EEA, 2019<sup>17</sup>

# **Brucellosi-EFSA 2019**

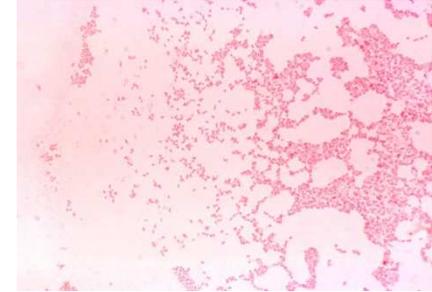
## Italia Discussione

In **Italy**, **a general decrease of cases has been notified** in all regions in the last 20 years and its **notification rate was for the first time in 2019 similar to the EU average.**

Brucellosis remains, however, an important health problem particularly **in southern part of Italy, reporting 89% of the annual cases** (Facciola et al., 2018). **Greece, Italy and Portugal** were the southern European MS where bovine brucellosis and *B. melitensis* brucellosis in sheep and goat flocks were still present in 2019, **with Sicily, in Italy, reporting the highest regional prevalence in bovine animals, and in sheep and goats.** These findings underline that brucellosis is still an animal health problem with public health relevance in these southern European MS.

# Brucella Eziologia

## ➤ *Brucella spp.*



- Gram negativo, coccobacillo molto piccolo (0,6-2,0 x 0,3-0,5  $\mu\text{m}$ ).
- Patogeno intracellulare facoltativo.
- Può persistere nell'ambiente anche a lungo (PASCOLI infetti!).



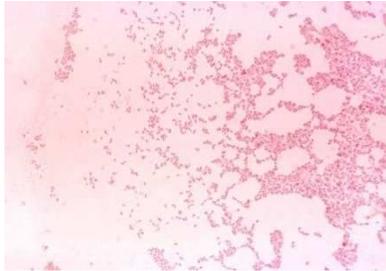
# Brucella Eziologia

- Responsabili dell'infezione sono otto specie appartenenti al genere Brucella:

- *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis*, *B. canis*, *B. ovis*, *B. neotomae*, *B. ceti* e *B. pinnipedialis*.... *B. microti*..altre *Brucella spp.*

- Le prime tre divise in biovars sulla base delle caratteristiche colturali e sierologiche.

*B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis*, *B. canis* gruppo di pericolo 3!



## Sorveglianza delle Zoonosi:

### Brucellosi

### *Cenni di epidemiologia*

• Le brucelle hanno ciascuna un ospite d'elezione, che ne rappresenta il serbatoio di provenienza:

B. abortus →



B. melitensis →



B. suis →



B. canis →



B. ceti/pinnipedialis →



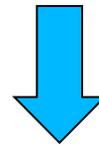
# L'INFEZIONE

- Infezione persistente (life long)
- **Escrezione del microrganismo attraverso prodotti dell'aborto (feti, seconde, secrezioni vaginali) e secrezioni mammarie (latte).**

# Brucellosi

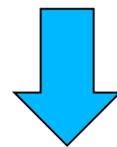
Modalità di trasmissione e patogenesi:  
Bovini e ovicaprinini

Secrezioni, deiezioni, prodotti abortivi e placenta animali infetti.



Via digerente, genitale, oculo-  
congiuntivale

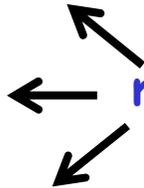
Linfonodi regionali



Stato di quiescenza

Micro-  
mastite

Problemi genitali maschio



milza, midollo osseo e linfonodi

Aborto 3-  
4° mese



Aborto 6-7° mese  
gravidanza



# La malattia (ruminanti)

## ➤ **Femmine**

- **Aborti**, natimortalità, animali nati deboli
- Ritenzione placentare, metrite
- Diminuzione produzione latte-**Micromastite subclinica**

## ➤ **Maschi**

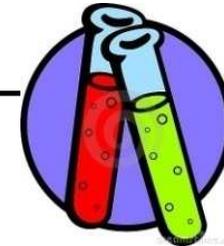
- Epididimite, orchite

## ➤ **Infertilità, artrite**

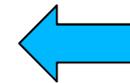
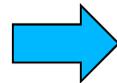


## Brucellosi

Modalità di trasmissione: Uomo



Via transcutanea:  
contatto diretto con  
materiale biologico di  
animali infetti  
**brucellosi occupazionale**



Via aerogena e Via  
congiuntivale: aerosol,  
mani contaminate  
**brucellosi in personale  
di laboratorio**  
**Agente classe III!**



Via alimentare: Consumo di  
latte infetto non sottoposto ad  
adeguato trattamento termico  
o prodotti derivati freschi  
**Paesi industrializzati-Italia**



# INVIO CAMPIONI SOSPETTI BRUCELLOSI

Agente gruppo di pericolo 3!

Importante CONFEZIONARE i campioni dopo il prelievo in IDONEI contenitori a tenuta, nel rispetto delle norme di biosicurezza





# Brucellosi Diagnosi

## *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*

Brucellosis (Brucella abortus, B. melitensis and B. suis) (infection with B. abortus, B. melitensis and B. suis )

<http://www.oie.int/en/international-standard-setting/terrestrial-manual/access-online/>

There is **no single phenotypic test** by which a bacterium can be identified unequivocally as *Brucella*. Accordingly, for a **definitive identification, a combination of growth characteristics, serological, bacteriological methods is required** (Alton et al., 1988; Joint FAO/WHO Expert Committee on Brucellosis, 1986).

# Brucellosi diagnosi diretta

- IZSLT ha una **Procedura Operativa Standard** per **l'esame colturale** di *Brucella* spp. **accreditata** secondo ISO/IEC 17025 Standard.
- **POS basata sul Manuale OIE.**

## Diagnosi diretta: Scopi

- Rilevare e determinare le **species/biovars coinvolte**
- Affrontare il problema (anche dopo l'eradicazione) di risultati **falsi positivi sierologici**... (e. g. singoli o pochi reactors)
- **I test indiretti (serology) sono imperfetti per definizione...**
- **Rose Bengal Test ha «solo» 99.0% DSp!!! (DSp= Diagnostic Specificity)!**

## AGENTI INTERFERENTI CROSS-REAGENTI!

Veterinary Immunology and Immunopathology 141 (2011) 58–63



Contents lists available at ScienceDirect

Veterinary Immunology and Immunopathology

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/vetimm](http://www.elsevier.com/locate/vetimm)



RBT = DSp (99.0%;  
95% CPI: 98.0;  
99.6%)

Research paper

### Evaluation of sensitivity and specificity of RBT, c-ELISA and fluorescence polarisation assay for diagnosis of brucellosis in cattle using latent class analysis

G. Matope<sup>a,\*</sup>, J.B. Muma<sup>b</sup>, N. Toft<sup>f</sup>, E. Gori<sup>c</sup>, A. Lund<sup>d</sup>, K. Nielsen<sup>e</sup>, E. Skjerve<sup>g</sup>

<sup>a</sup> Department of Paraclinical Veterinary Studies, University of Zimbabwe, P.O. Box MP 167, Mount Pleasant, Harare, Zimbabwe

<sup>b</sup> Department of Disease Control, University of Zambia, School of Veterinary Medicine, P.O. Box 32397, Lusaka, Zambia

<sup>c</sup> Department of Preclinical Veterinary Studies, University of Zimbabwe, P.O. Box MP 167, Mount Pleasant, Harare, Zimbabwe

<sup>d</sup> Department of Animal Health, National Veterinary Institute, P.O. Box 8156 Dep., N-0033 Oslo, Norway

<sup>e</sup> Ontario Laboratories (Fallowfield), Canadian Food Inspection Agency, 3851 Fallowfield Road, Nepean, Ontario, Canada K2H 8P9

<sup>f</sup> Department of Large Animal Sciences, Faculty of Life Sciences, Copenhagen University, Grønnegaardsvej 8, DK 1870 Frederiksberg C, Denmark

<sup>g</sup> Department of Food Safety and Infection Biology, Norwegian School of Veterinary Science, P.O. Box 8146 Dep., 0033 Oslo, Norway

#### ARTICLE INFO

##### Article history:

Received 11 February 2010

Received in revised form 28 January 2011

Accepted 9 February 2011

##### Keywords:

RBT

c-ELISA

FPA

Brucellosis

Latent class analysis

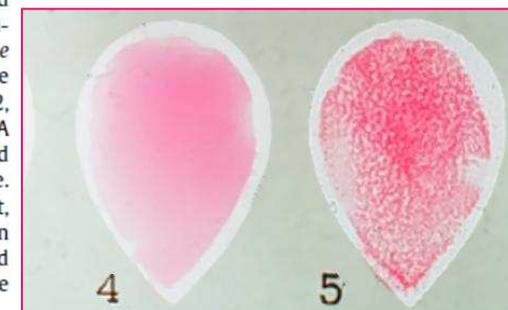
#### ABSTRACT

The sensitivity ( $Se$ ) and specificity ( $Sp$ ) of the Rose Bengal test (RBT), competitive ELISA (c-ELISA), serum (sFPA) and blood (bFPA) fluorescence polarisation assay for brucellosis were evaluated using latent class analysis using sera and whole blood collected from infected cattle reared in smallholder dairy farms of Zimbabwe. The latent class model allowed estimation of  $Se$  and  $Sp$  in the absence of a gold standard test. The c-ELISA had the highest  $Se$  (99.0%; 95% credible posterior interval (CPI): 94.8; 100%), while the RBT and sFPA had the highest  $Sp$  (99.0%; 95% CPI: 98.0; 99.6%). The bFPA had the lowest  $Se$  (71.3%; 95% CPI: 56.2, 83.5%), while its  $Sp$  (96.3%; CPI: 93.9; 98.0%) was marginally higher than that of the c-ELISA (95.4% CPI: 93.7; 96.8%). Therefore based on these data, test regimen using the RBT and c-ELISA could be suitable for diagnosis of brucellosis in smallholder dairies in Zimbabwe. Based on cost and ease of performance, the sFPA may be adopted as a confirmatory test, but its performance may be optimised by altering cut-off points to suit the Zimbabwean conditions. Thus, latent class models provide an alternative method for evaluating  $Se$  and  $Sp$  of diagnostic tests, which could be used to optimise test performance in different cattle populations.

© 2011 Elsevier B.V. All rights reserved.

Indirect tests may detect **cross-reacting antibodies** resulting from exposure to other micro-organisms such as *Salmonella urbana* O:30, *Escherichia coli* O:116, O:157, *Yersinia enterocolitica* O: 9, etc.

**AGENTI INTERFERENTI!**



Validation of FPA and cELISA for the detection of antibodies to *Brucella abortus* in cattle sera and comparison to SAT, CFT, and iELISA

J.A. McGiven\*, J.D. Tucker, L.L. Perrett, J.A. Stack, S.D. Brew, A.P. MacMillan  
Department of Bacterial Diseases, *HO/WHO Collaborating Centre for Reference and Research on Brucellosis*,  
Veterinary Laboratories Agency, Woodham Lane, New Haw, Weybridge, Surrey, KT15 5NB, UK

Received 21 August 2002; received in revised form 27 January 2003; accepted 8 April 2003

**Table 1**  
**Diagnostic specificity and sensitivity values for each method**

Parameter	CFT	SAT	iELISA	cELISA	FPA
Test cutoff	20 IUs	30 IUs	10%	70%	15.5mP
DSp (%)	99.9 (± 0.20)	98.9 (± 0.65)	97.8 (± 0.34)	99.7 (± 0.28)	99.1 (± 0.44)
Total no. of samples	995 <sup>a</sup>	995 <sup>a</sup>	6957	1440	1947
DSn (%)	91.8 (± 4.46)	81.5 (± 6.30)	97.2 (± 2.65)	95.2 (± 3.47)	96.6 (± 2.95)
Total no. of samples	146	146	146	146	146
DSp + DSn	191.7 (± 4.45)	180.4 (± 6.33)	195.0 (± 2.70)	194.9 (± 3.48)	195.7 (± 2.79)

Values in parentheses indicate 95% confidence interval.

<sup>a</sup> Data from Emmerzaal et al. (2002).

## B. DIAGNOSTIC TECHNIQUES

**Table 1.** Test methods available for the diagnosis of infection with *Brucella abortus*, *melitensis* or *suis*

	Purpose					
BDAT (RBT or BPAT)	+++	++	+++	+	+++	n/a
FPA	++	++	+	++	++	n/a
<b>CFT</b>	++	++	+++	++	+++	n/a
I-ELISA	+++	++	+++	++	+++	n/a
C-ELISA	++	+	+	+	++	n/a
BST	++	–	+	+++	++	n/a
SAT	++	+	+	–	+	n/a
NH and cytosol protein-based tests <sup>e</sup>	–	–	+	++	–	n/a
Bulk milk tests <sup>f</sup> Milk I-ELISA or Milk ring-test	+++	–	+++	+	+++	n/a

Key: +++ = recommended method; ++ = suitable method; + = may be used in some situations, but cost, reliability, or other factors severely limits its application; – = not appropriate for this purpose; n/a = not applicable.

## Diagnosi diretta

L'isolamento **necessita di:**

- Campioni adeguati (tipo, numero, ben conservati);
- Terreni specifici di coltura e di incubazione;
- Tempi lunghi (fino a 6 settimane);
- Idonee condizioni di Biosafety/Biosecurity.

## Campioni di elezione per l'esame colturale

- Tessuti (**linfonodi, milza**, organi riproduttivi femminili e maschili).
- **Feti abortiti** (contenuto dello stomaco, milza e polmone).
- **Secrezioni vaginali**
- **Latte** e prodotti lattiero caseari
- **Fluidi da igromi**

## Brucellosi-Diagnosi diretta - **Esame culturale**

➤ L'isolamento si ottiene generalmente mediante l'effettuazione di **colture in parallelo** su terreni solidi e terreni liquidi di arricchimento selettivo.

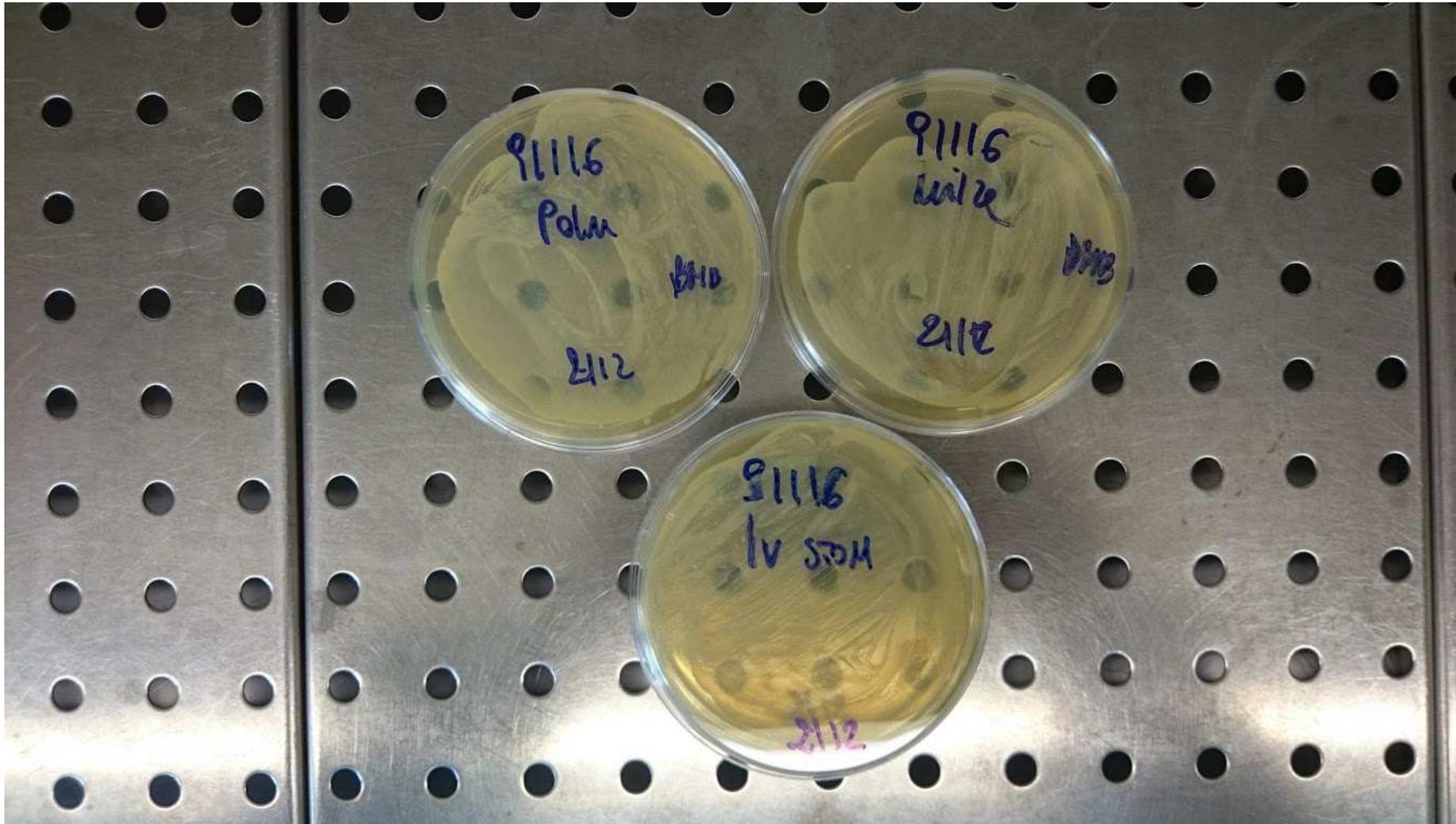
➤ Farrell's Medium (**FM**)

➤ CITA Medium (**CITA**)

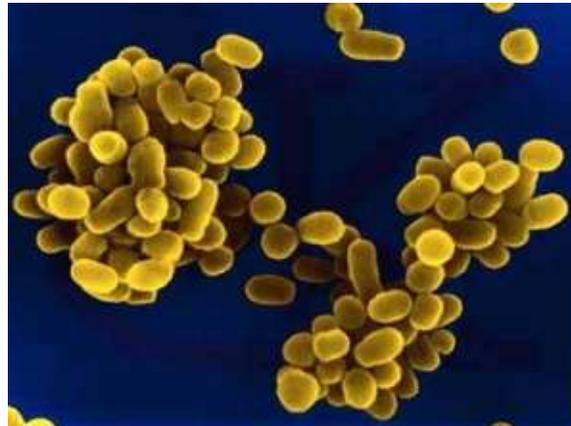
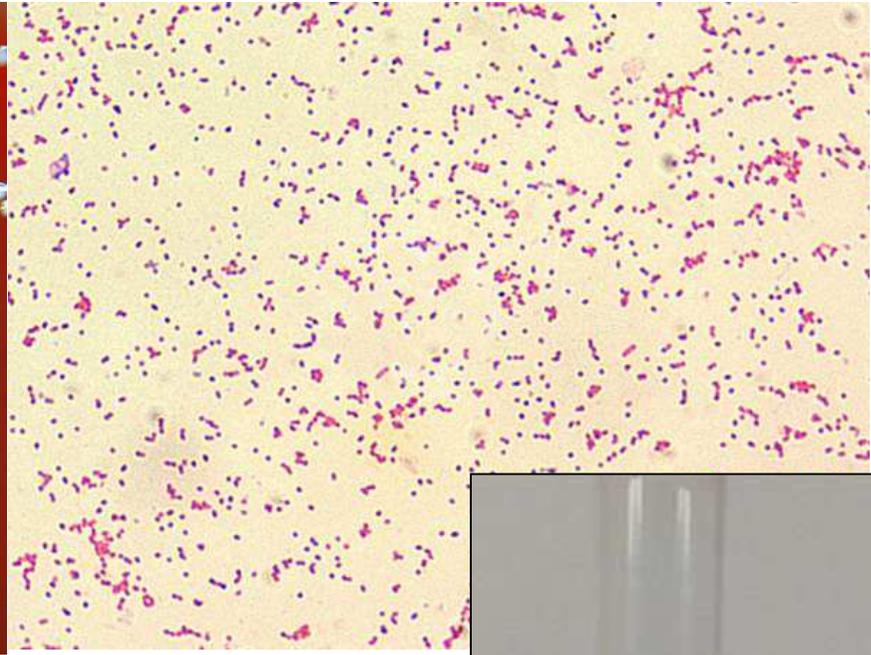
➤ **TSB1 o TSB2** (terreni liquidi)

**Primary culture (at 7 days)**

**Ovine abortion on Farrell's medium (*B. melitensis* 3)**



# Phenotypic characteristics of *Brucella spp.*



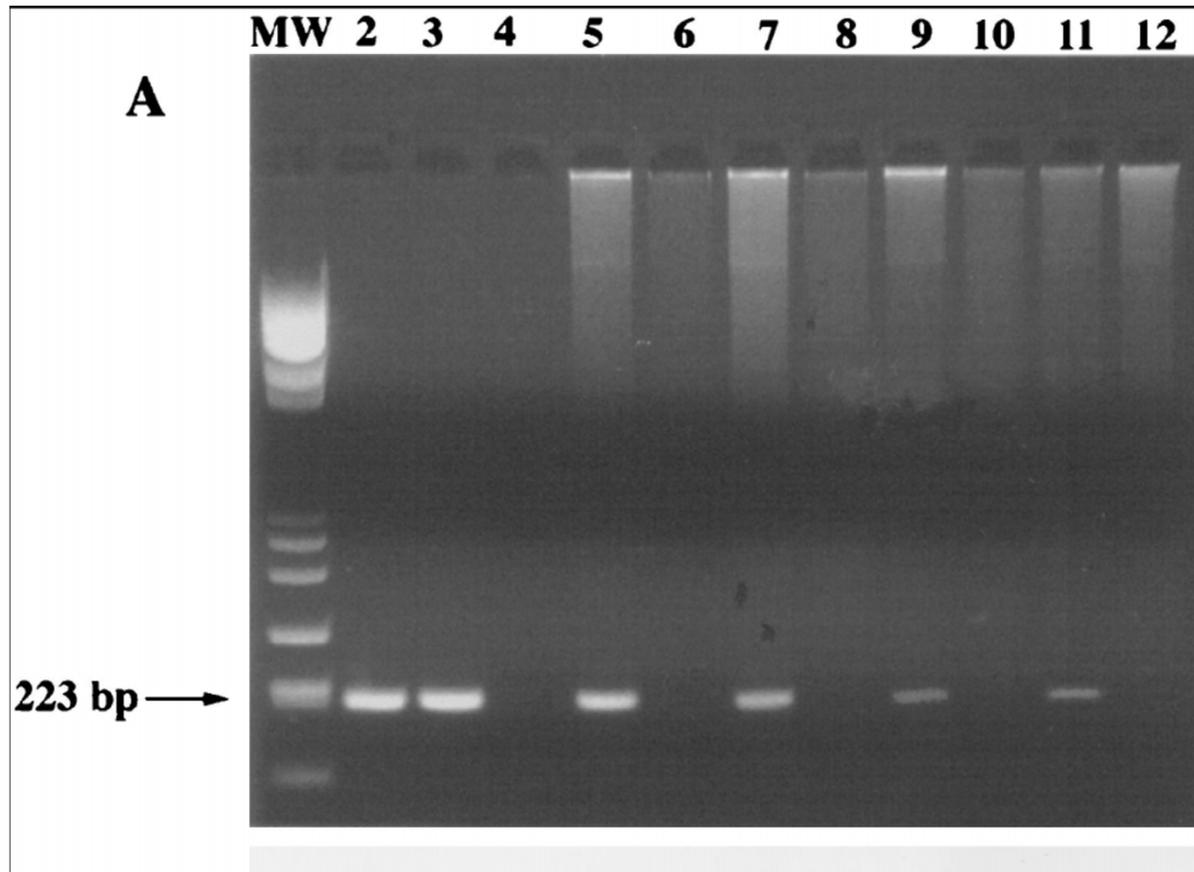
## Brucellosi-Diagnosi diretta - PCR

### **PCR testing** (*Brucella spp.*):

- **End-point PCR:** specific primers for the amplification of a sequence of 223 bp (BCPS31, *Baily et al., 1992*; primers: *Elfaki et al., 2005*)
- **Real-Time PCR** (*Bounaadja et al., 2009*)

# End-point PCR

## BCPS31 PCR (223 bp amplicon)



# Detection & Identification by **Real-Time PCR**

## **Real-Time PCR based on IS 711 locus**

Veterinary Microbiology 137 (2009) 156–164



### Real-time PCR for identification of *Brucella* spp.: A comparative study of IS711, *bcsp31* and *per* target genes

Lotfi Bounaadja<sup>a,b</sup>, David Albert<sup>c</sup>, Benoît Chénais<sup>a</sup>, Sylvie Hénault<sup>c</sup>, Michel S. Zygmunt<sup>d</sup>, Sylvie Poliak<sup>b</sup>, Bruno Garin-Bastuji<sup>c,\*</sup>

<sup>a</sup> Université du Maine, Laboratoire de Biologie et Génétique Evolutive, EA2160 Mer Molecules Santé, 72085 Le Mans, France

<sup>b</sup> Laboratoire Départemental de la Sarthe, 72000 Le Mans, France

<sup>c</sup> OIE/FAO and EU Community Reference Laboratory for Brucellosis, French Food Safety Agency (AFSSA), 23 avenue du Général de Gaulle, 94706 Maisons-Alfort Cedex, France

<sup>d</sup> UR1282, Infectiologie Animale et Santé Publique (IASP), Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), 37380 Nouzilly, France

#### ARTICLE INFO

##### Article history:

Received 18 July 2008

Received in revised form 22 December 2008

Accepted 29 December 2008

##### Keywords:

*Brucella*

Real-time PCR

*bcsp31*

*per*

IS711

Genus-specific identification

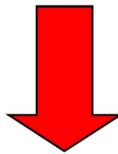
#### ABSTRACT

Culture is considered as the reference standard assay for diagnosis of *Brucella* spp. in humans and animals but it is time-consuming and hazardous. In this study, we evaluated the performances of newly designed real-time PCR assays using TaqMan<sup>®</sup> probes and targeting the 3 following specific genes: (i) the insertion sequence IS711, (ii) *bcsp31* and (iii) *per* genes for the detection of *Brucella* at genus level. The real-time PCR assays were compared to previously described conventional PCR assays targeting the same genes. The genus-specificity was evaluated on 26 *Brucella* strains, including all species and biovars. The analytical specificity was evaluated on a collection of 68 clinically relevant, phylogenetically related or serologically cross-reacting micro-organisms. The analytical sensitivity was assessed using decreasing DNA quantities of *Brucella ovis*, *B. melitensis* bv. 1, *B. abortus* bv. 1 and *B. canis* reference strains. Finally, intra-assay repeatability and inter-assay reproducibility were assessed. All *Brucella* species DNA were amplified in the three tests. However, the earliest signal was observed with the IS711 real-time PCR, where it varied according to the IS711 copy number. No cross-reactivity was observed in all three tests. Real-time PCR was always more sensitive than conventional PCR assays. The real-time PCR assay targeting IS711 presented an identical or a greater sensitivity than the two other tests. In all cases, the variability was very low. In conclusion, real-time PCR assays are easy-to-use, produce results faster than conventional PCR systems while reducing DNA contamination risks. The IS711-based real-time PCR assay is specific and highly sensitive and appears as an efficient and reproducible method for the rapid and safe detection of the genus *Brucella*.

## Brucellosi-Diagnosi diretta : **Caratterizzazione molecolare**

Scopi:

- Rilevare e determinare le **species/biovars coinvolte** sul territorio (con cosa abbiamo a che fare?).



- Epidemiologia molecolare....
- Correlazione tra casi umani e casi negli animali

**Strain characterization is important !!**

# **Brucellosi-Diagnosi diretta: Caratterizzazione molecolare**

Metodi molecolari:

- **Multilocus Sequencing Typing (MLST)**
- **Multiple locus variable number of tandem repeats analysis (MLVA)**
- **Oggi NGS-WGS**

## Ulteriori caratterizzazioni

Gli isolati di *Brucella* spp. sono sempre inviati per una ulteriore **caratterizzazione** e per una **definitiva identificazione di specie e di biotipo** presso un Laboratorio di Riferimento Nazionale, Comunitario o OIE (IZS Abruzzo e Molise).

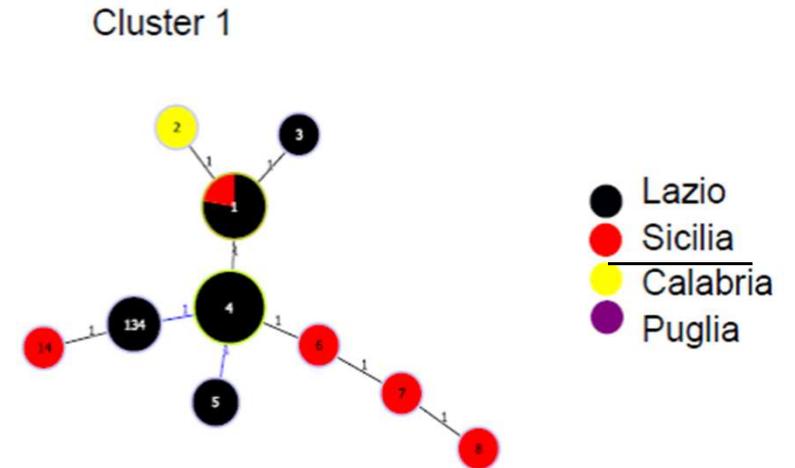
Figura 1. Albero filogenetico tipo UPGMA che rappresenta le connessioni tra i vari profili analizzati. In rosso si evidenziano i due cluster individuati.

Isolati B.  
melitensis  
biovar 3 da  
epidemia di  
Brucellosi in  
provincia di  
Roma e  
Frosinone,  
2014-2016



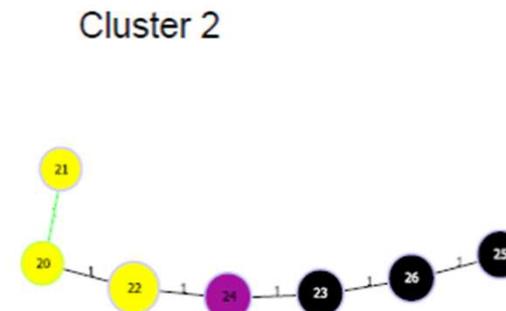
Figura 2. Minimum Spanning tree ottenuto con metodo goe-Burst rappresentante le connessioni a singolo locus tra i genotipi del focolaio e quelli presenti nel database LRN per le Brucellosi

Cluster 1

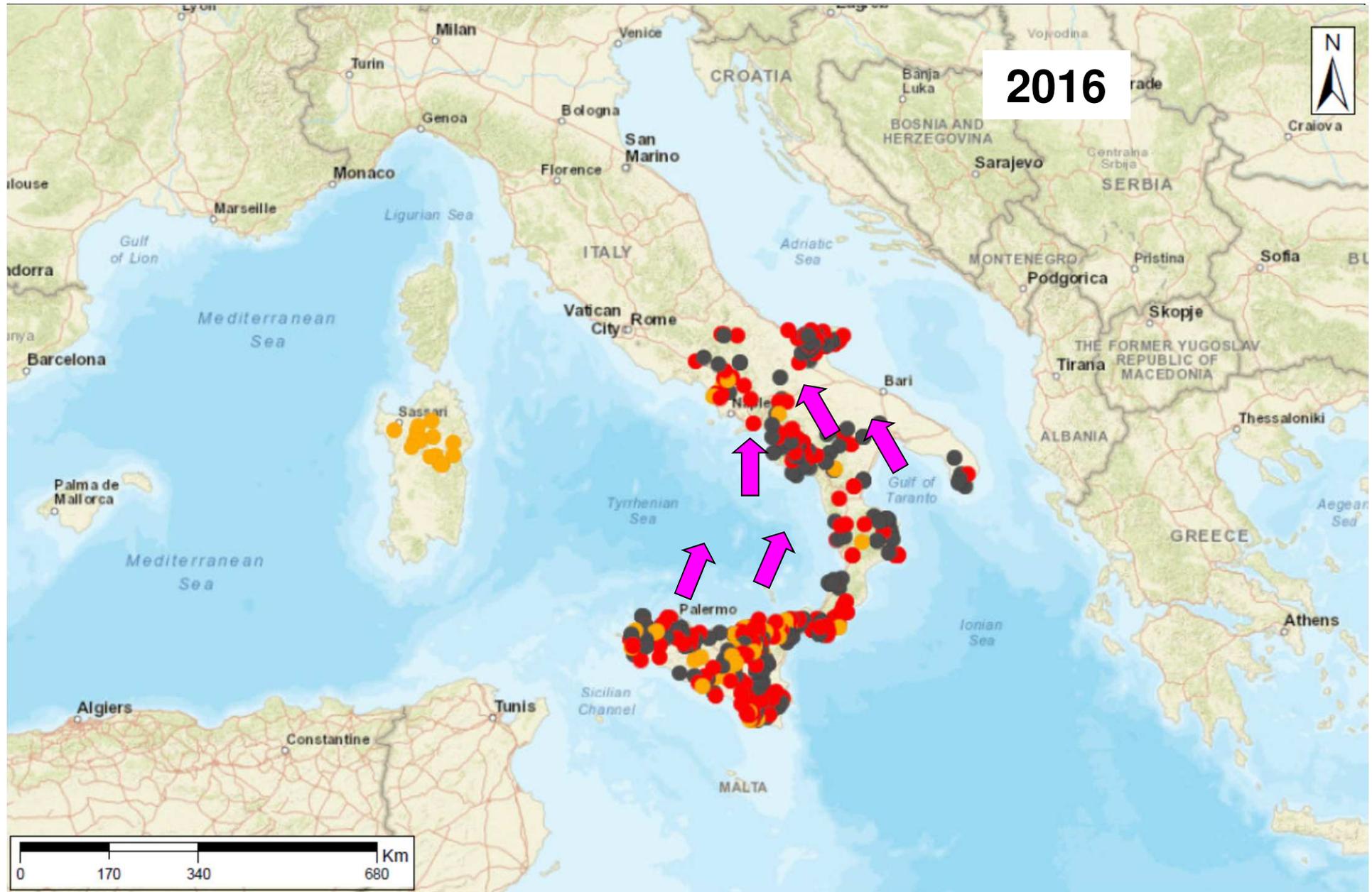


2 Clusters: Frosinone e Roma 2014

Cluster 2



# BRUCELLOSI ITALIA 2012-2016



Dr. Marcello Sala 2017

# Focolai Lazio 2014-2016 considerazioni

- Aree endemiche italiane rappresentano il principale fattore di rischio (tuttora presente) per la reintroduzione della BRC nelle aree indenni.
- Il principale fattore di rischio per la eventuale diffusione della BRC risiede nella efficacia e tempestività delle azioni a livello locale (ASL) per identificare tempestivamente i focolai e chiuderli tempestivamente!

# *Brucella suis* biovar 2-Toscana 2019-2021...

## ***Brucella suis***

- 5 biovars, of which the first three only considered capable of infecting swine
- Widespread in Europe (Western & Eastern), including Italy, France, Portugal, Germany
- **Many wild boar (meta)populations do maintain *B. suis* biovar 2 in Europe**

***Brucella suis***  
**biovar 2**  
***Suidi in Toscana***



Rischio legato a suini allevati allo stato brado o semi-brado- Toscana cinta senese e non solo!

**Biosicurezza!**



# Toscana 2019-2021 *Brucella suis* biovar 2

Sorveglianza della circolazione dell'infezione da  
*Brucella suis* biovar 2 nel circuito degli  
allevamenti di Cinta Senese della Toscana

## Piano regionale ad hoc

Ufficio di staff Osservatorio Epidemiologico  
Tel. 06 79099462 - 461 - 460 - 473 - 476 - Fax 06 79099462 – oevr@izslt.it

Alla c.a. Dott. Alessandro Millo  
Direzione Diritti di Cittadinanza e Coesione Sociale  
Settore Prevenzione e sicurezza in ambienti di vita, alimenti e veterinaria  
P.O. Sanità animale, igiene degli allevamenti e igiene urbana veterinaria  
Regione Toscana

**Oggetto: proposta per un Piano di sorveglianza e prevenzione della brucellosi suina in Regione Toscana**

Come concordato a termine della riunione del 03/12/2019 presso il Ministero della Salute, con la partecipazione del CRN per le brucellosi dell'IZSAM, Regione Toscana ed IZSLT, si trasmette la [proposta tecnico-scientifica](#) per un Piano di sorveglianza e prevenzione della brucellosi suina in Regione Toscana, da sottoporre ad approvazione Ministeriale. La proposta si intende a supporto della programmazione regionale di un sistema di controlli minimi per la verifica di circolazione dell'infezione negli allevamenti suini all'aperto e per la gestione del rischio.

Nel rimanere a disposizione per eventuali chiarimenti porgiamo cordiali saluti.

Osservatorio Epidemiologico  
Marcello Sala  
Email: marcello.sala@izslt.it  
tel + 39 06 79099473

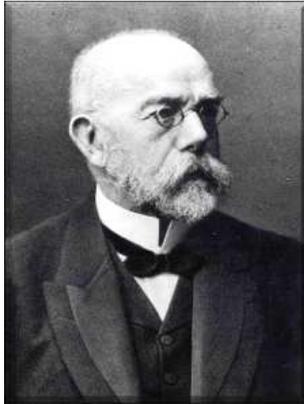


# *Brucella canis* 2020

## ***Brucella canis***

- Focolai di *Brucella canis* in tutta Italia in seguito a diffusione da allevamento illegale di cani di piccola taglia (Chiwawa) in provincia di Ancona





# TBC

## Bacillo di Koch

la tubercolosi (TBC) è una malattia infettiva dell'uomo e degli animali con decorso cronico, caratterizzata dalla formazione di noduli (tubercoli) e processi essudativi.

· Nell'uomo è causata principalmente da Mycobacterium tuberculosis mentre la TBC bovina/bufalina è sostenuta da M. bovis e in minor misura M. caprae. Anche M. bovis/caprae possono essere causa di tubercolosi nell'uomo (zoonosi)

· Malattia antichissima: Lesioni ossee rinvenute in scheletri umani dell'età della pietra e in mummie egiziane e peruviane. Legata nel passato soprattutto al consumo di latte crudo (M. bovis)

# TBC bovina

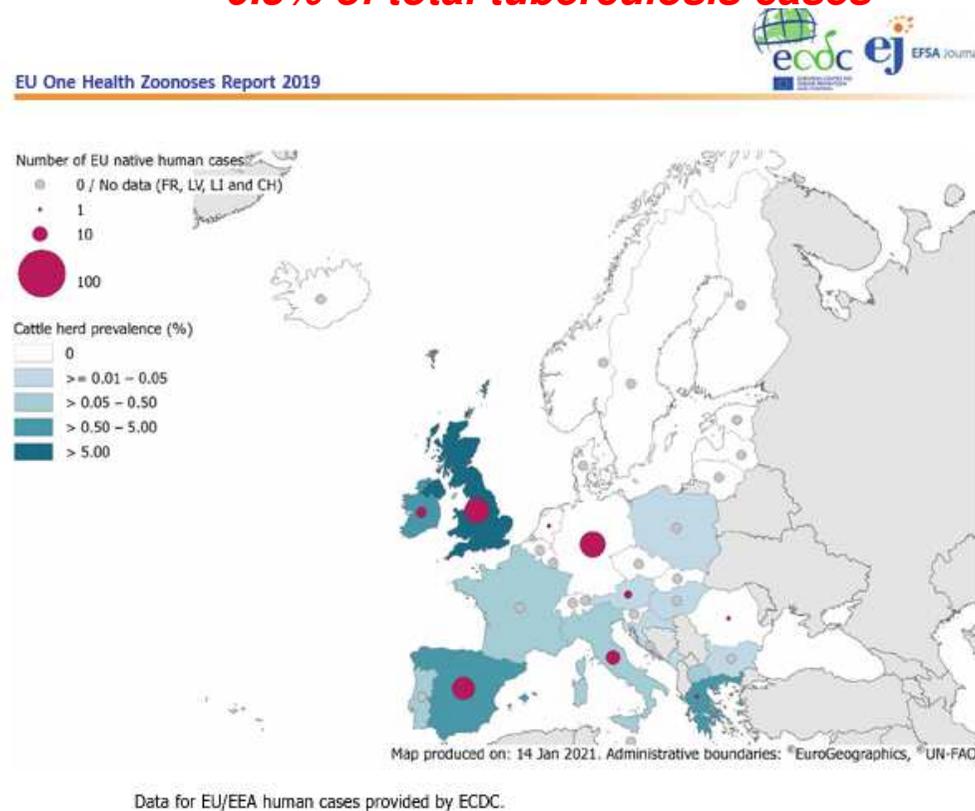
- Patologia con effetti socio-economici e di salute pubblica di notevole rilevanza
- Impatto significativo nei confronti del commercio internazionale di animali e prodotti animali.
- La sua diffusione è mondiale

# TBC-EFSA 2019

## Casi umani dovuti a *M. bovis* e *M. caprae*

*Tuberculosis due to Mycobacterium bovis or Mycobacterium caprae is a rare infection in humans in the EU, with **147 confirmed cases in humans reported in 2019.***

*Overall, ***M. bovis* and *M. caprae*** cases accounted for only **0.3% of total tuberculosis cases***

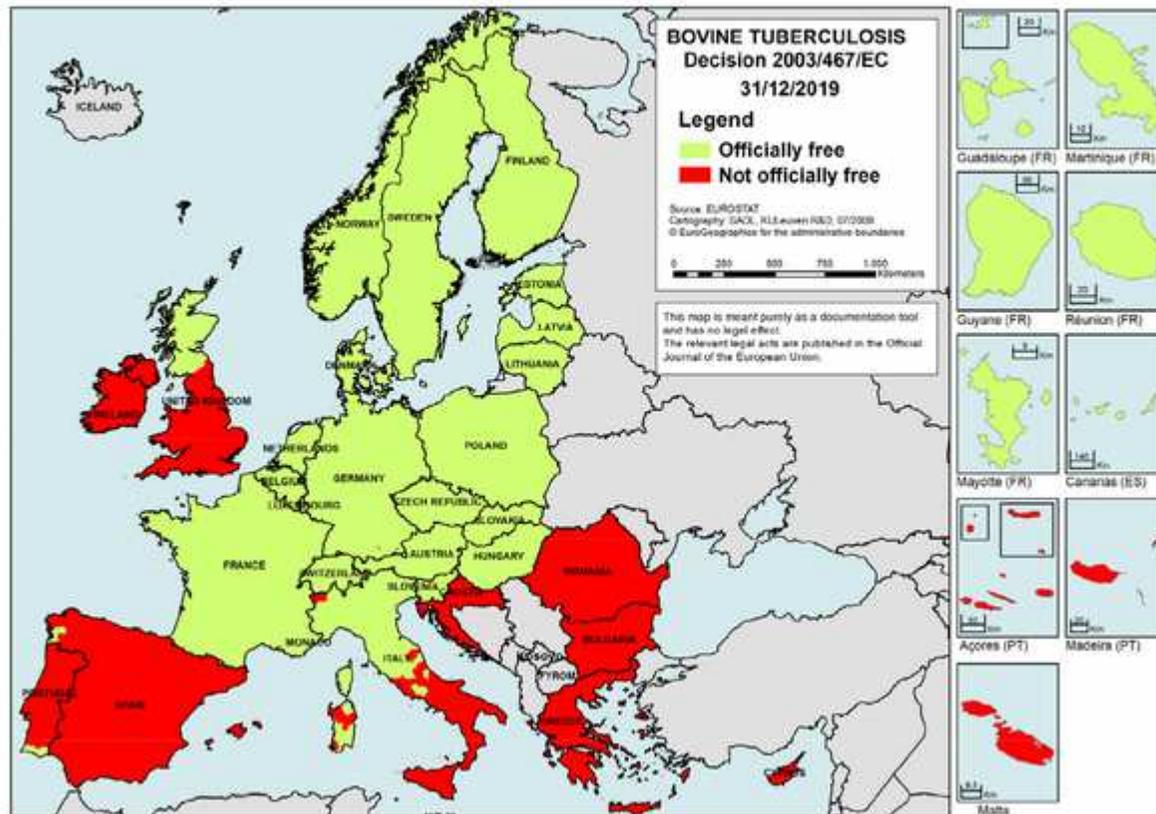


**Figure 32:** Number of confirmed tuberculosis cases due to *M. bovis* and to *M. caprae* in individuals of EU origin and national herd prevalence of bovine tuberculosis in cattle (ignoring OTF regions), EU/EFTA, 2019

# TBC-EFSA 2019

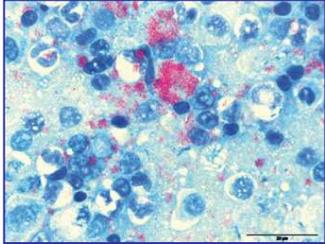
## Allevamenti bovini positivi

EU One Health Zoonoses Report 2019

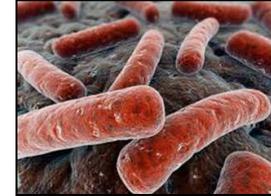


**Figure 33:** Status of countries on bovine tuberculosis, EU/EEA, 2019<sup>12</sup>

# Eziologia TBC bovina e bufalina

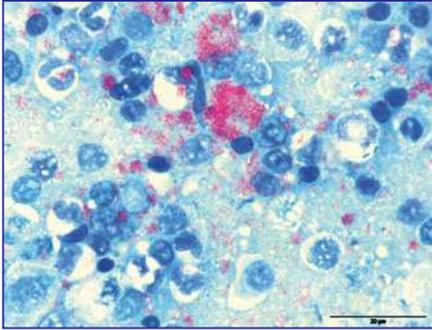


## *M. bovis*

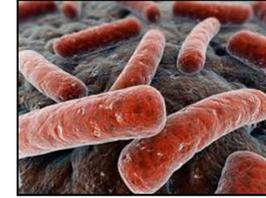


Forma bastoncellare, asporigeno, immobile, strettamente aerobio, se sottoposto a colorazione di Ziehl-Neelsen essendo acido-resistente, assume regolarmente un caratteristico colore rosso

Il serbatoio principale è il bovino ma possono essere colpite molte altre specie domestiche (capre, pecore, pets, cavalli...) e selvatiche (tassi, cinghiali, bisonti, antilopi, volpi, ratti...)



# Eziologia



## *M. tuberculosis complex*

- *M. tuberculosis*
- *M. africanum* (subtype I e II)
- *M. bovis*
- *M. bovis* BCG
- *M. microti*
- *M. caprae*
- *M. canettii*
- *M. pinnipedii*

Persiste/resistente nell'ambiente!

# L'infezione (bovini)- trasmissione

- **Via aerogena tramite aerosol** è la più frequente via di infezione, seguita dall'**ingestione** di materiale contaminato (**via alimentare**).

# Sintomi TBC bovina

**Spesso subclinici !!**

**..... Quando presenti, spesso non  
caratteristici/distintivi!**

# Sintomi TBC bovina

- Perdita di peso graduale, nonostante adeguata alimentazione
- Febbre in genere non elevata – l'animale tende ad abbeverarsi maggiormente
- Ingrossamento dei linfonodi (es. del collo)
- Difficoltà nella respirazione
- Tosse– peggiore al mattino, con il freddo e dopo esercizio fisico



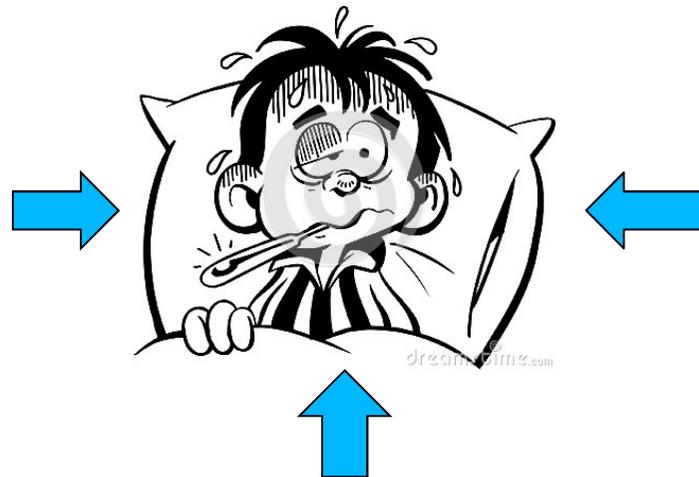
# TBC bovina

**Trattamento:** unico metodo è la rimozione (macellazione) di tutti gli animali infetti ed esposti.

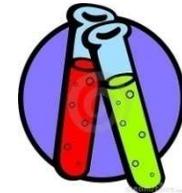
## Tubercolosi da *M. bovis*

Modalità di trasmissione: Uomo

Contatto diretto con  
materiale biologico di  
animali infetti



Materiale infetto in  
laboratorio: agente  
**Classe III!**



Via alimentare: Consumo di  
latte infetto non sottoposto ad  
adeguato trattamento termico  
o prodotti derivati freschi



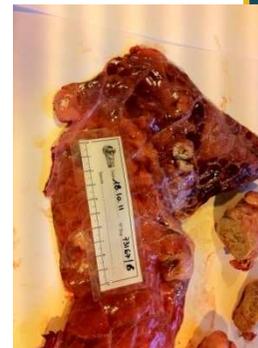
# TBC-Lesioni Post-mortem

## Granulomi (tubercoli)

### ➤ Aspetto

- Gialli
- Caseosi
- Calcificati
- Possono assomigliare ad ascessi

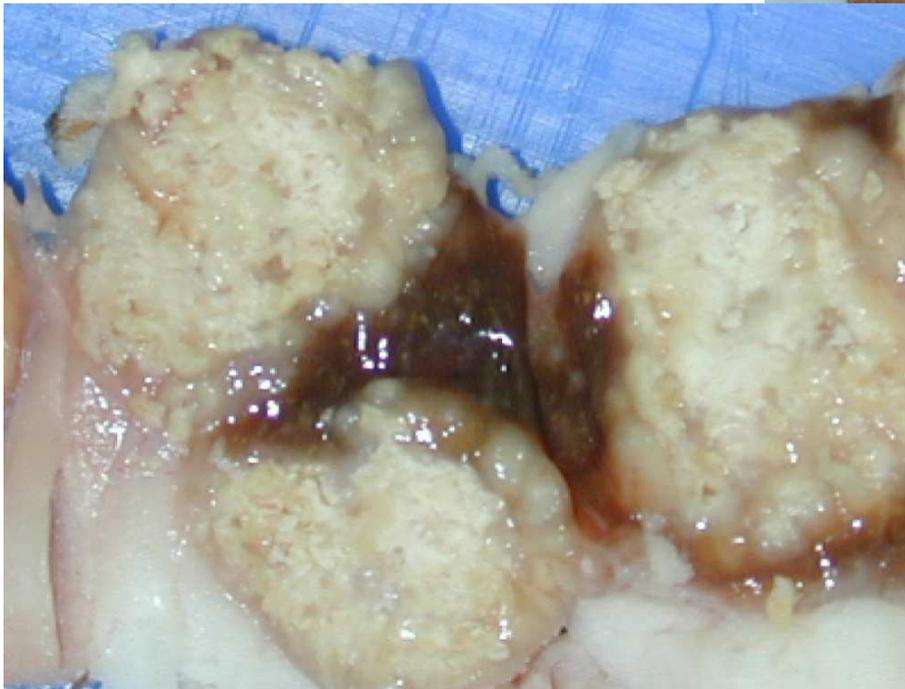
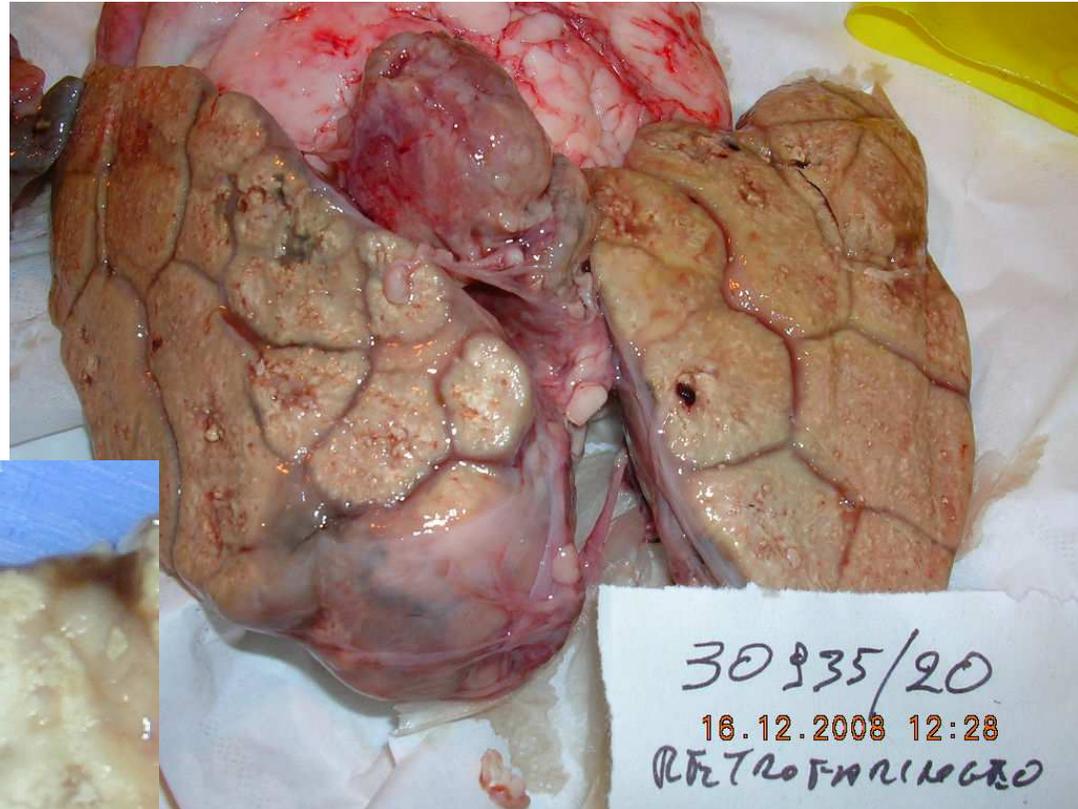
### ➤ Nei linfonodi e altri organi



# TBC-Lesioni Post-mortem



# TBC-Lesioni Post-mortem



# Diagnosi di laboratorio-Diagnosi in animali in vita

## Test della tubercolina (skin test)

- Reazione di ipersensibilità ritardata
- Test prescritto per gli scambi internazionali!
- Test ancillari
  - Gamma-interferon test
  - ELISA
  - Lymphocyte proliferation test



## Tubercolosi da *M. bovis* skin test

D.M. 15 dicembre 1995, n. 592

•La prova ufficiale per la diagnosi di TBC bovina in vita, è il **test di intradermoreazione alla tubercolina PPD (Purified Protein Derivative) bovina**. E' test di allergia all'inoculazione (reazione di ipersensibilità ritardata), che negli animali infetti provoca ispessimento cutaneo dopo **72 ore**, accompagnato a volte da fenomeni infiammatori locali o generali. L'intradermoreazione tubercolinica deve essere eseguita nella regione del collo fra il terzo anteriore e il terzo mediano.

# Prova IDT comparativa

- La prova **IDT comparativa** (ppd bovina e ppd aviare inoculate nello stesso animale) **aumenta la considerevolmente la specificità!**
- **DSP >99% (DEFRA, UK)**
- *Questo è il motivo per cui, ancora oggi, la IDT (nella sua forma singola o comparativa) è il test di elezione per i Piani di eradicazione*
- **IDT comparativa “Genera” meno falsi positivi di G-IFN e quindi meno “falsi focolai”!**

# Campioni per la diagnosi diretta di TB

**-Organi con lesioni rilevate al macello**



**-Tessuti = linfonodi da:**

**Reactors (positive/dubbi) al test della Tuberculina**



# Diagnosi di laboratorio

*Diagnosi diretta: generalmente post-mortem*

- **Istopatologia**
- **Esame colturale**
  
- **Ancillary:**
  - PCR dai tessuti (rapida ma con bassa sensibilità in “no lesion reactors“)
  - Immune-Histo-Chemistry (IHC)

# Diagnosi di laboratorio

## Istopatologia

- Diagnosi rapida
- Buona correlazione con l'esame colturale
- Ma conclusiva solo quando le tipiche lesioni da TBC sono riscontrate
- E non identifica l'agente causale

# Diagnosi di laboratorio

## Esame colturale

- Elevata sensibilità e specificità
- Lenta = incubazione fino a 12 settimane!

a) **Microscopic examination**

*Mycobacterium bovis* can be demonstrated microscopically on direct smears from clinical samples and on prepared tissue materials. The acid fastness of *M. bovis* is normally demonstrated with the classic Ziehl–Neelsen stain, but a fluorescent acid-fast stain may also be used. Immunoperoxidase techniques may also give satisfactory results. The presumptive diagnosis of mycobacteriosis can be made if the tissue has characteristic histological lesions (caseous necrosis, mineralisation, epithelioid cells, multinucleated giant cells and macrophages). As lesions are often paucibacillary, the presence of acid-fast organisms in histological sections may not be detected, although *M. bovis* can be isolated in culture. However, large numbers of acid-fast organisms are seen in lesions in primates, felids, mustelids (badgers) and marsupials (brush-tailed possums).

***M. tuberculosis* complex are slow growing bacteria!**

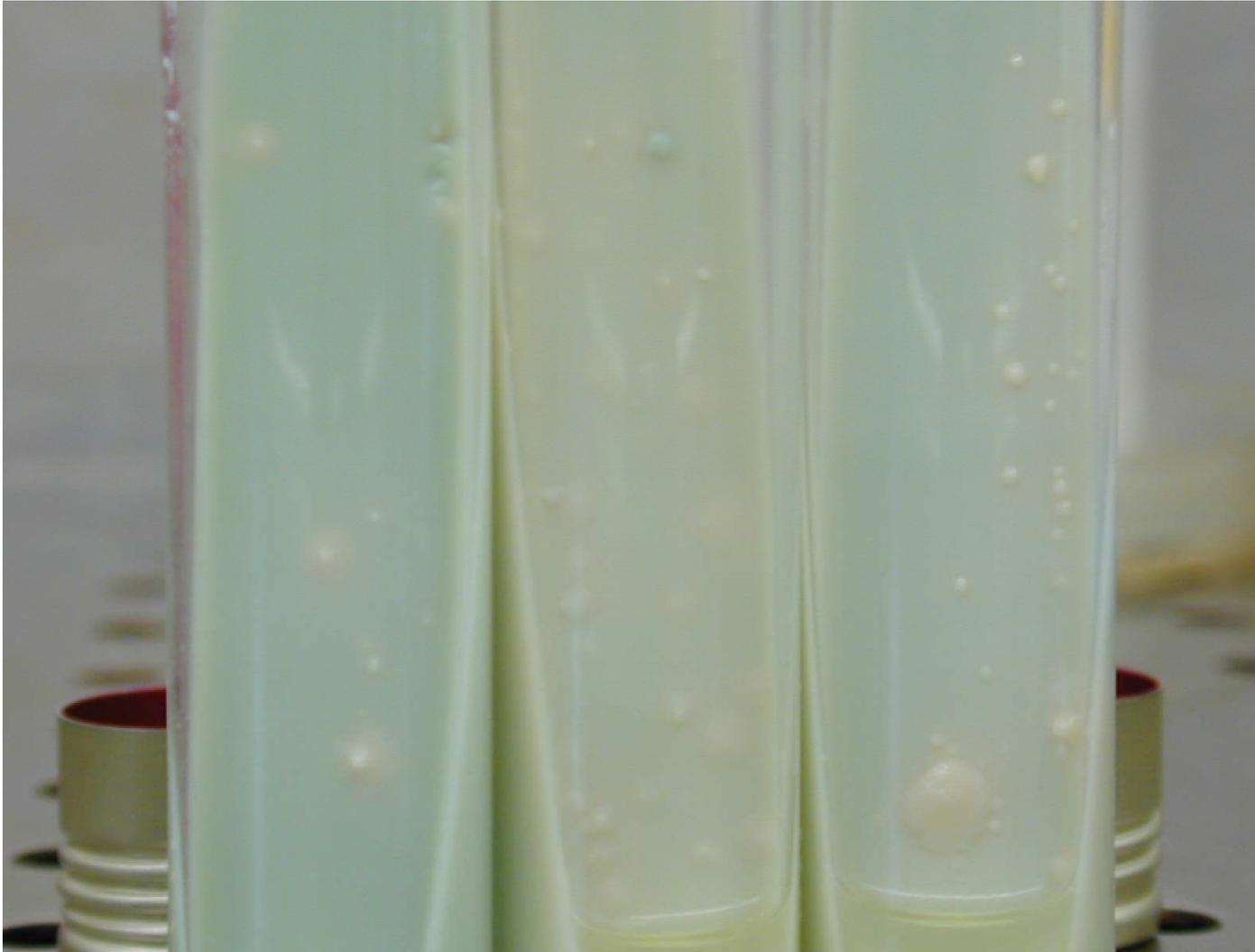
b) **Culture**

To process specimens for culture, the tissue is first homogenised using a mortar and pestle, stomacher or blender, followed by decontamination with either detergent (such as 0.375–0.75% hexadecylpyridinium-chloride [HPC]), an alkali (2–4% sodium hydroxide) or an acid (5% oxalic acid). The alkali or acid mixture is shaken for 10–15 minutes at room temperature and then neutralised. Neutralisation is not required when using HPC. The suspension is centrifuged, the supernatant is discarded, and the sediment is used for culture and microscopic examination. It is recommended that, as a minimum, pooled lymph node samples from the head and thorax be cultured when no visible lesions are detected in tuberculin or interferon test positive animals at post-mortem examination.

For primary isolation, the sediment is usually inoculated on to a set of solid egg-based media, such as Lowenstein–Jensen, Coletsos base or Stonebrinks; these media should contain either pyruvate or pyruvate and glycerol. An agar-based medium such as Middlebrook 7H10 or 7H11 or blood based agar medium (16) may also be used.

Cultures are incubated for a minimum of 8 weeks (and preferably for 10–12 weeks) at 37°C with or without CO<sub>2</sub>. The media should be in tightly closed tubes to avoid desiccation. Slopes are examined for macroscopic growth at intervals during the incubation period. When growth is visible, smears are prepared and stained by

## Solid media



A. Battisti 2002



# **TBC-Identificazione dell'agente**

➤ Dimostrazione **all'esame microscopico** di acid-fast bacilli

➤ Diagnosi presuntiva

➤ Nessuna informazione sulla specie di *Mycobacterium*

➤ **Esame colturale seguito da DNA-based techniques, come la PCR**

➤ Conferma dell'infezione

➤ Identificazione della specie di *Mycobacterium*

**L'identificazione della specie è rilevante ai fini epidemiologici  
control/eradication purposes!**

## TB diagnosis Recap

**Tissue samples with visible lesions or from  
Tuberculin test positive animals (no visible  
lesion reactors)**

**Macroscopic examination**

**Tissue samples for:**

- **Histopathology**
- **Culture** (SOP following OIE Manual)

Microscopic examination, cultures, DNA techniques, such as PCR on isolates referable to *Mycobacterium spp.*

Direct PCR provides variable results depending on stage of lesions etc. (Diagnostic Sensitivity is not optimum)

# **TBC-Diagnosi diretta: Caratterizzazione molecolare**

Metodi molecolari utili per ottenere informazioni epidemiologiche= **Epidemiologia molecolare:**

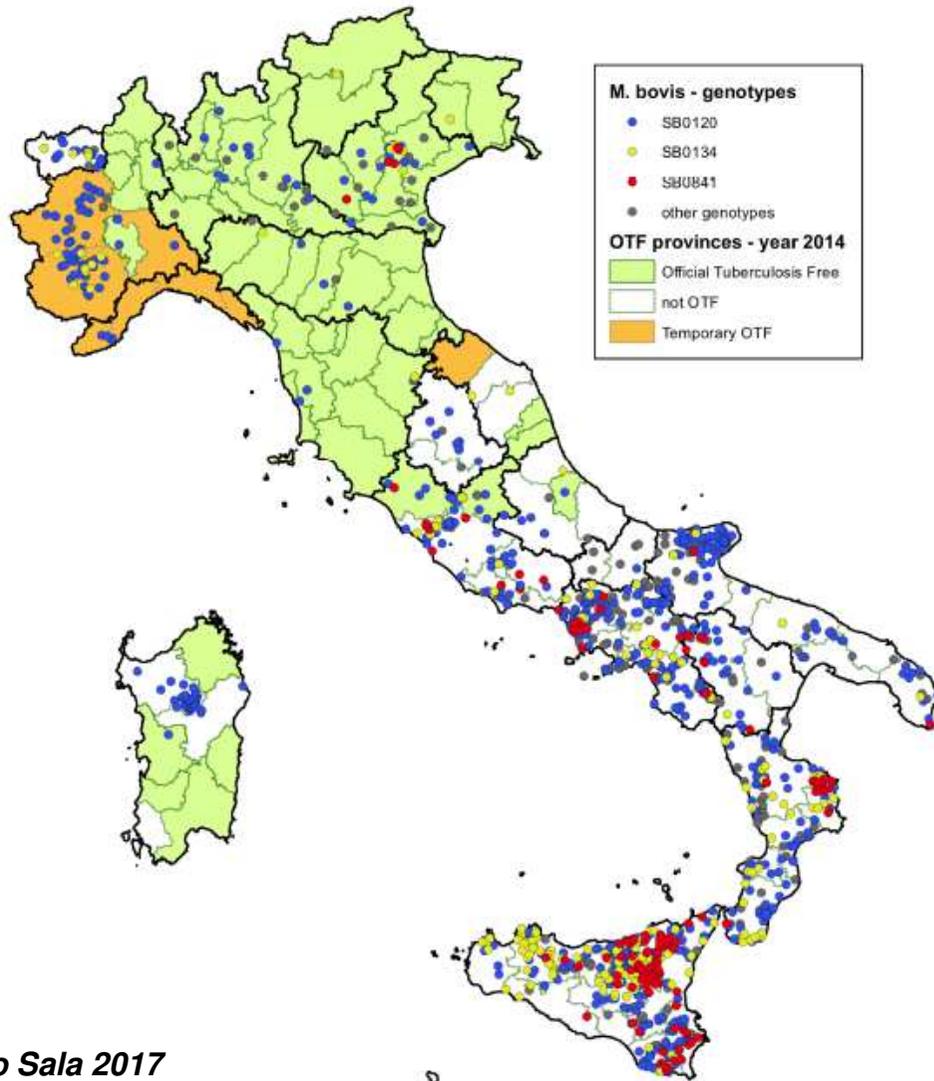
➤ **Spoligotyping**

➤ **Oggi NGS-WGS**

*Distribuzione geografica degli spoligotipi  
maggiormente diffusi in Italia dal 2008-2015.*

**TBC:  
Italia  
M. bovis**

**BOVINE TUBERCULOSIS IN ITALY - YEAR 2008/2014**  
update 31/12/2014



**SB120**

**SB134**

**SB841**

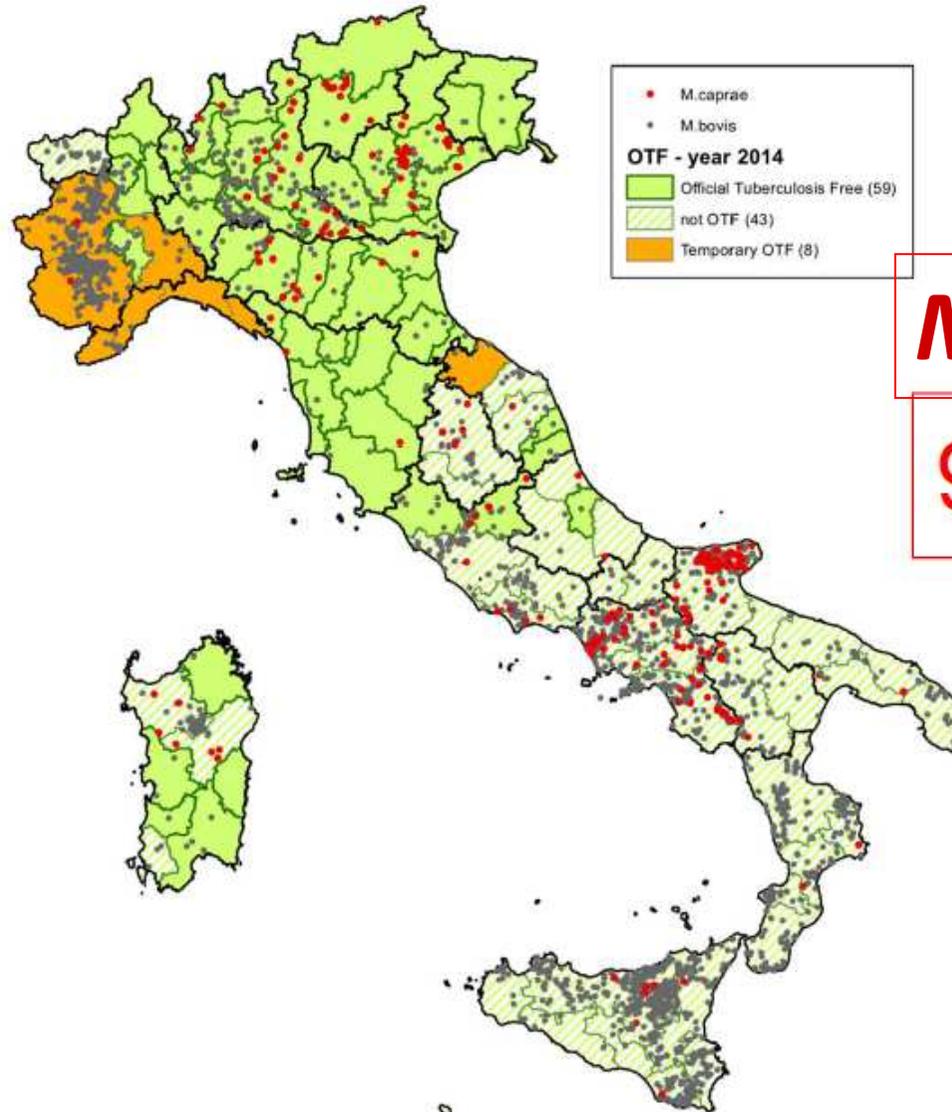
} 70%

N° tot spoligotipi =  
160

# Distribuzione geografica *M. caprae* 2000-2015

## BOVINE TUBERCULOSIS IN ITALY - YEAR 2000/2014

update 31/12/2014

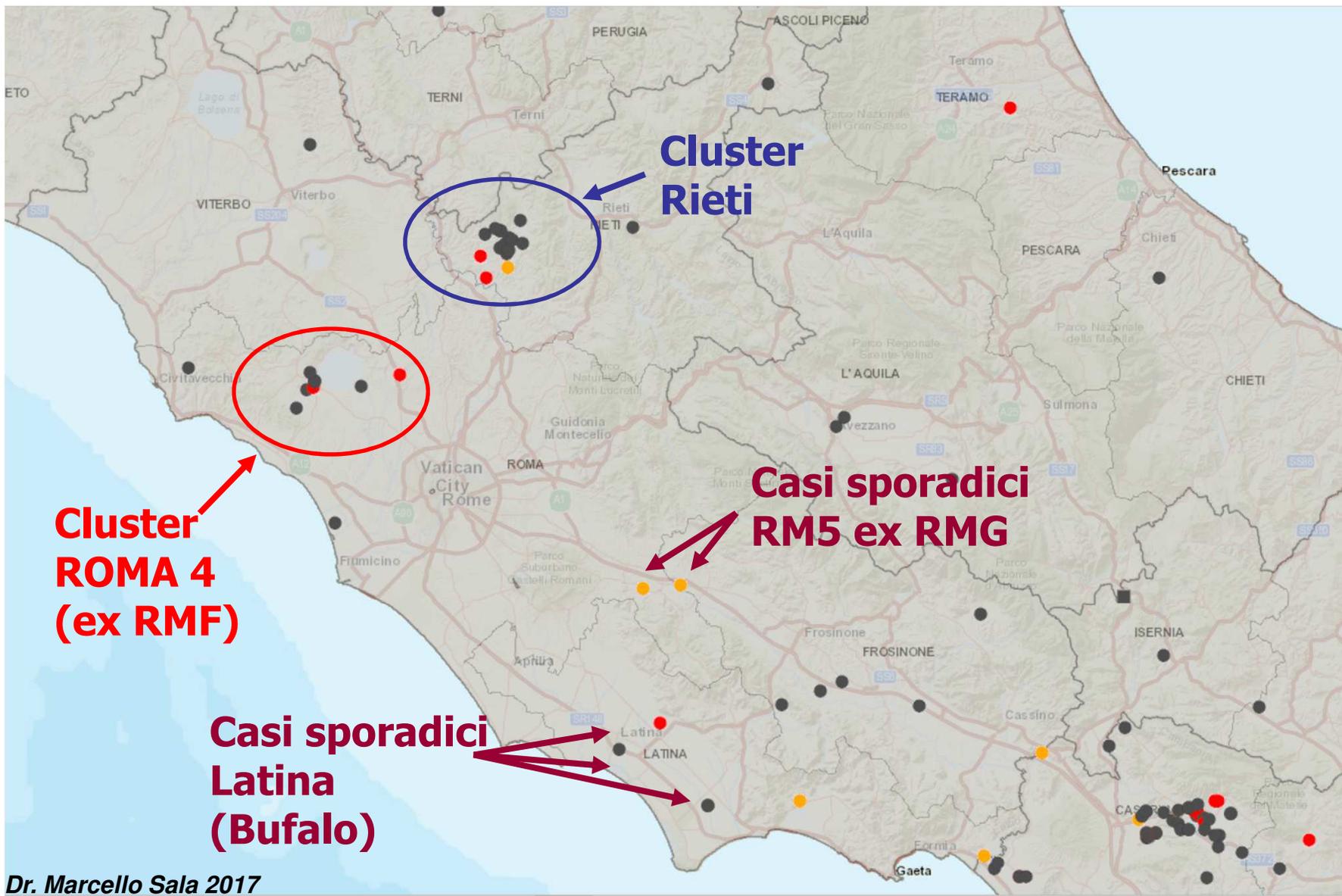


# TBC: Italia

*M. caprae*

9,2%

# LAZIO 2014-2017: focolai di TBC



## LAZIO/Toscana: Elementi di rischio TBC

### ➤ Allevamenti allo stato brado

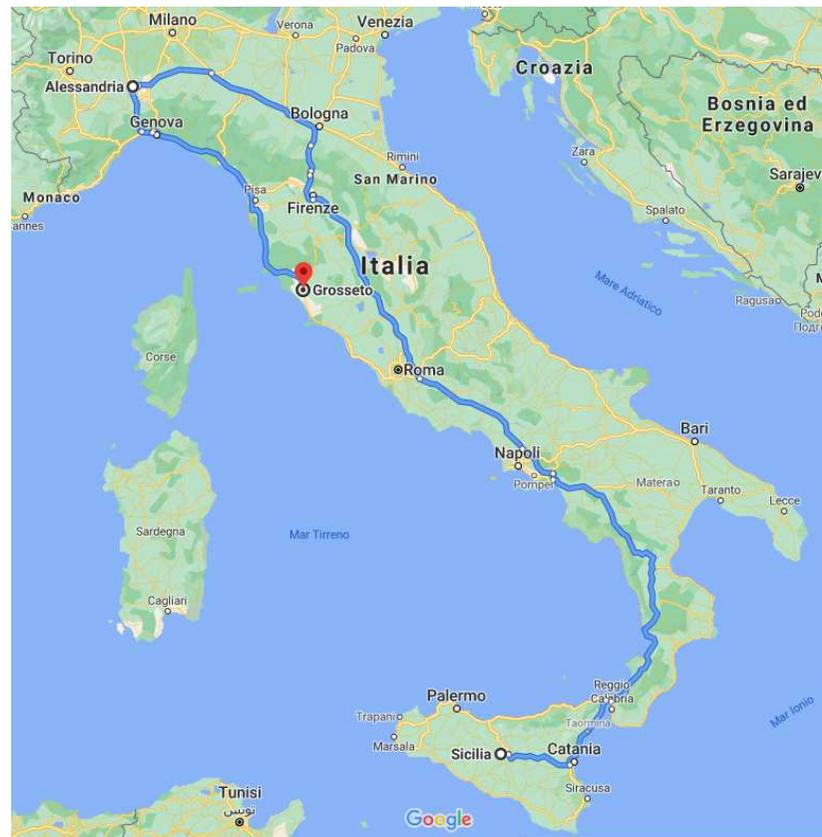


**Capi non identificati**  
Capi «vaganti»  
sfuggono al controllo  
annuale  
**serbatoio**

# Toscana: Elementi di rischio TBC

**Movimentazione di capi non controllati (animali da carne) o illegale**

- Caso recente: capo nato in Sicilia, ingrassato in Piemonte, finissato/macellato nel Grossetano.....



# Tularemia

EFSA-2019-the EU notification rate for 2019 for human tularaemia cases was **0.25 cases per 100,000 population**

## **Francisella tularensis**

- **Coccobacillo gram negativo pleomorfo**
- **È tra i più piccoli batteri conosciuti (0,2 x 0,7 micr.)**
- **Probabilmente il più altamente infettante**
- **Immobile, aerobio obbligato, non sporigeno**
- **Dipendenza da cistina e CO<sub>2</sub> per la coltivazione**



# Tularemia

In natura è soprattutto malattia di roditori e lagomorfi nei quali si manifesta con:

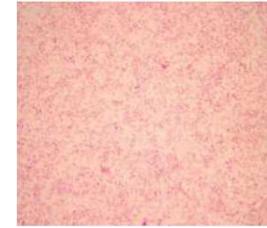
- quadri acuti setticemici a rapido decorso (Ovest Europa)
- forme croniche (es. lepri-Est Europa)



# Tularemia-epidemiologia



# Tularemia



**Uomo:** Ospite accidentale all'interno del ciclo

- si infetta facilmente attraverso diverse vie con sviluppo di differenti quadri clinici
- Non c'è trasmissione interumana

## **F. tularensis subsp. tularensis (tipo A):**

presente in Nord America.

- virulenza elevata per l'uomo e gli animali
- da 1-10 batteri per via SC
- 25 batteri per aerosol

## **F. tularensis subsp. holarctica (tipo B):**

- più raramente fatale per l'uomo e presente in Asia, Europa, USA.
- associata a roditori semi-acquatici in USA (castori)
- a micromammiferi terricoli e lepri nell' Est Europa e Russia
- In habitat associati a laghi, stagni e fiumi

# Tularemia

- Nell'uomo emerge spesso come eventi epidemici! Ambiente rurale!



-Difficilmente la malattia giunge all'osservazione dei sistemi/servizi sanitari veterinari perchè:

- Difficoltà di sorveglianza negli animali selvatici
- Predazione naturale

# **Tularemia**

**- Spesso l'infezione resta confinata nell'ambiente selvatico (roditori e lagomorfi)**

**Ma.....**

**- Persistenza nell'ambiente! (acqua, biofilm, zecche, zanzare)**

# Tularemia-diagnosi negli animali

- Diagnosi clinica: di fatto impossibile.
- Diagnosi anatomo-patologica (nella lepre): non conclusiva...**splenomegalia**..ma....

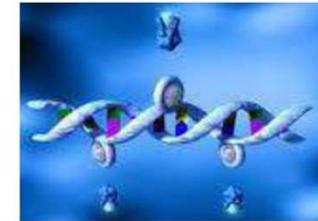


- Forme croniche (est Europa): lesioni simil-ascessuali a vari parenchimi (polmone, sierose, rene)
- Diagnosi differenziale con Brucellosi, Pseudotubercolosi, Pasteurellosi setticemica, Stafilococcosi disseminata. Altre splenomegalie aspecifiche (es. da stasi)

# Tularemia-Diagnosi

## Diagnosi di laboratorio:

- Esame colturale
- Prova biologica
- Sierologia
- Molecolare



# Tularemia-Diagnosi diretta

**Esame colturale: Terreno specifico-Agar Cistina con o senza antibiotici.**

- **Crescita lenta: 48-96 h**
- **Colonie grigio verdastre caratteristiche**
- **Piccolissimi cocci Gram-negativi**



**Per la conferma (oggi molecolare):**

- **PCR / PCR Real Time**
- **Sequenziamento**

# Francisella tularensis

**Possibile agente di  
bioterrorismo!**

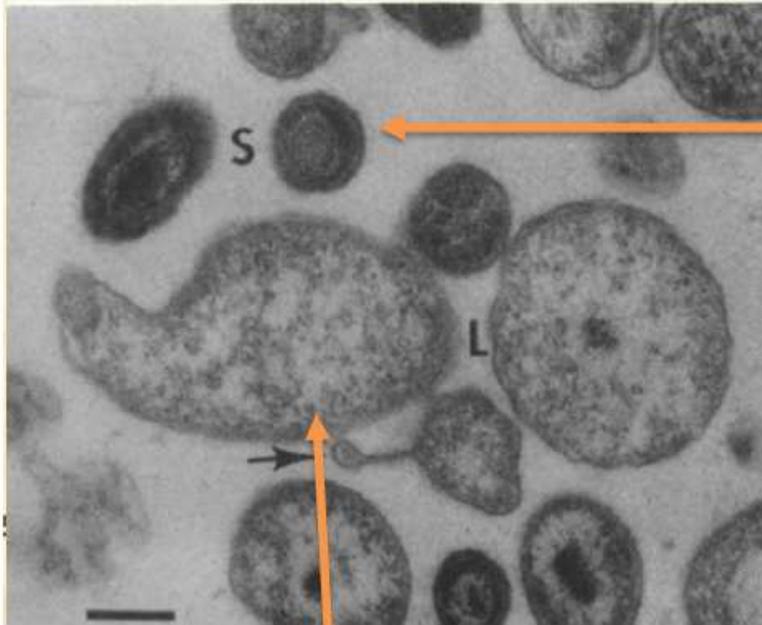


# Febbre Q-*Coxiella burnetii*

Ordine Legionellales, famiglia Coxiellaceae

- Aspetto **pleomorfo**.
- Possiede un parete batterica simile ai gram negativi.
- **Parassita intracellulare obbligato**.
- **2 forme morfologiche (extracellulare ed intracellulare)**.
  
- **Dose infettante molto bassa**: uomo da 1-10 cellule batteriche.
- **Molto resistente**: 42 mesi a 4-6°C nel latte, 12-16 mesi nella lana, 4 mesi nella polvere, 49 giorni nelle urine essiccate.
- **Resistente a molti disinfettanti**: inattivato da alcol etilico 70% (30 min.), cloroformio 5% (30 min), calciocianamide 0,6% (1 settimana).

# Febbre Q-*Coxiella burnetii*



**Forma  
extracellulare  
(infettante)**

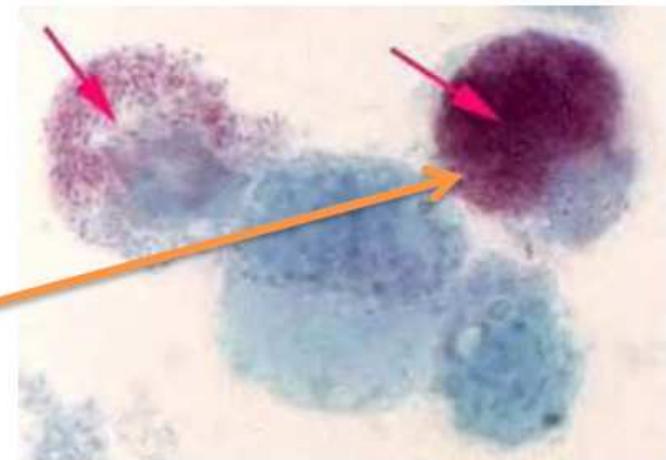
**Small cell variant (SCV)**

- aspetto elettrondenso
- membrana esterna
- parete densamente colorata

**Forma intracellulare  
(replicativa)**

**Large cell variant (LVC) simili a  
bacilli Gram-negativi**

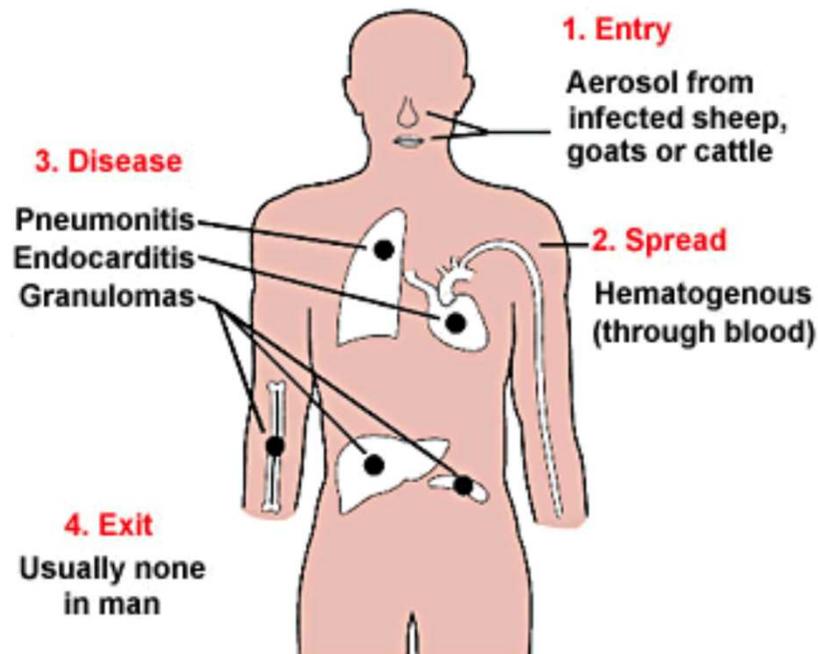
ricchi di ribosomi, parete cell. meno rigida



# Febbre Q-*Coxiella burnetii*

Può infettare un ampio numero di specie animali!

I **ruminanti** domestici sono considerati la **più importante fonte di infezione per l'uomo**. La principale modalità di trasmissione è rappresentata dall'inalazione di aerosol infetto.



# Febbre Q-*Coxiella burnetii*

## RUMINANTI-SINTOMATOLOGIA

- **Aborto tardivo** (soprattutto capre)
- Natimortalità, ipovitalità
- Placentiti
- **Endometriti e infertilità** (bovini)
- **Polmoniti, mastiti, oftalmiti**
- **Spesso: parti normali con escrezione di *C. burnetii* (subclinico)**



# Febbre Q-*Coxiella burnetii*



## RUMINANTI

CAPRE

PECORE

BOVINI

**Escrezione con Feti,  
placenta/invogli,  
secreti vaginali, feci,  
urine e latte**

**-Infezione in:**

**-ALTRE SPECIE**

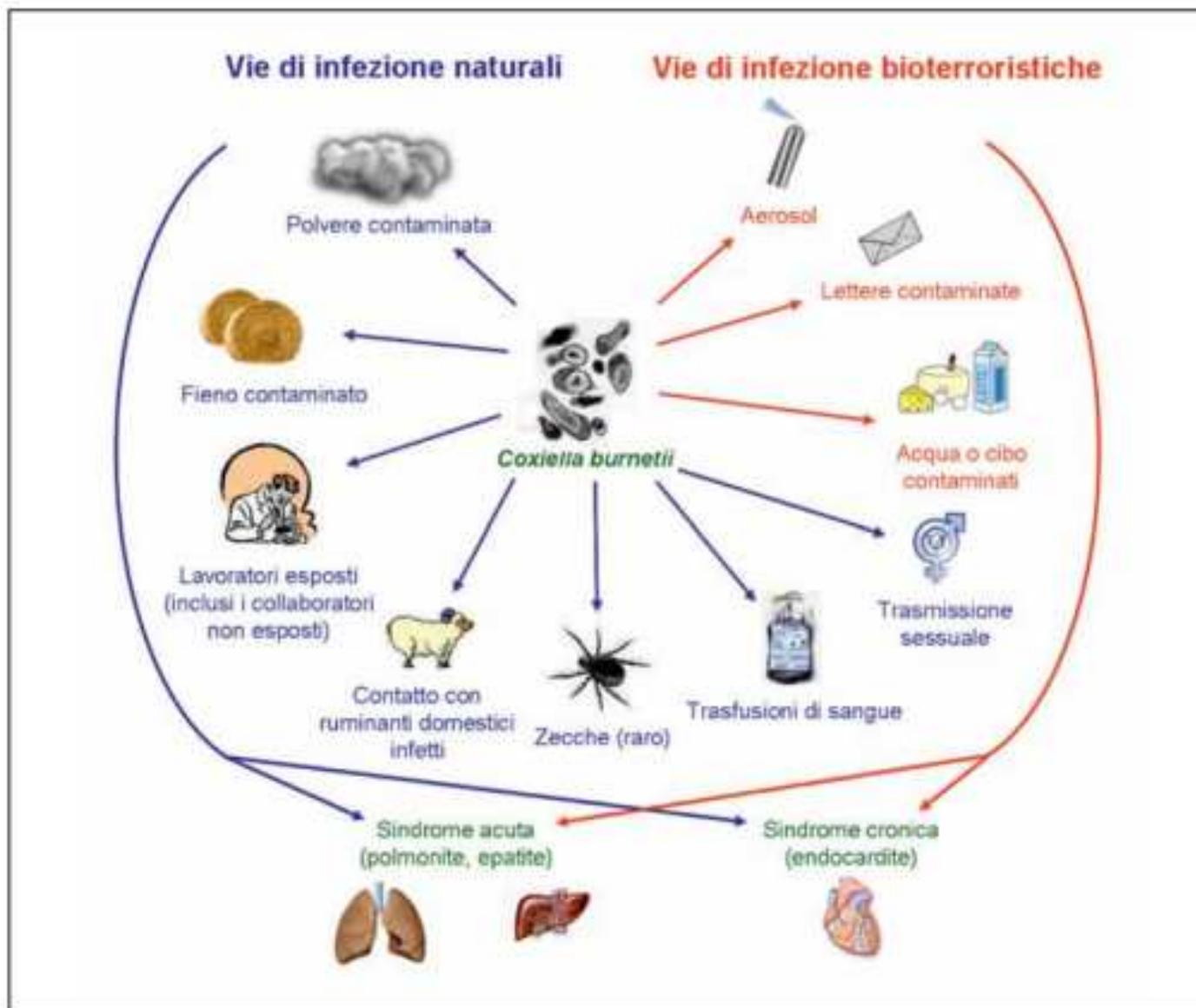
**UCCELLI**

**-ZECCHE**

**Trasmissione  
transovarica e  
transtadiale**

# Febbre Q-*Coxiella burnetii*-trasmissione

G. Borriello et al. Large Animal Review 2010; 16: 273-283 275



## Febbre Q-*Coxiella burnetii*

**EFSA Febbre Q-2019: The  
EU notification rate in  
humans in 2019 was **0.19**  
per 100,000 population**

## **Febbre Q-*Coxiella burnetii***

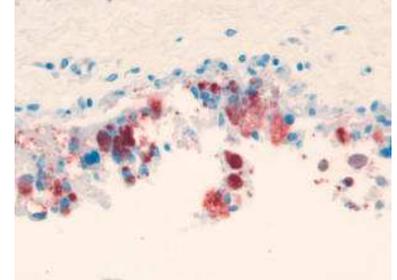
**At the EU level, there is no harmonised surveillance in place for Q fever in animals.** The main animal species tested are cattle, goats and sheep. Samples are mostly blood samples, samples from foetus and stillborn animals and from organs or tissues of animals suspected of being infected by *C. burnetii*.

## Febbre Q-*Coxiella burnetii*

### **EFSA 2019 diminuzione casi:**

the overall proportion of **test-positive animals in EU was 8.9% in sheep and goat** (10.8% based on 2018 data), **5.3% in cattle** (6.9% based on 2018 data) and 1% in other domestic and wild animals (2.7% based on 2018 data).

**Diagnosi diretta agenti abortigeni**  
**Coxiella e Chlamydie**



**Intracellulari obbligati = **diagnosi molecolare****

- PCR
- Caratterizzazione mediante MLVA, NGS



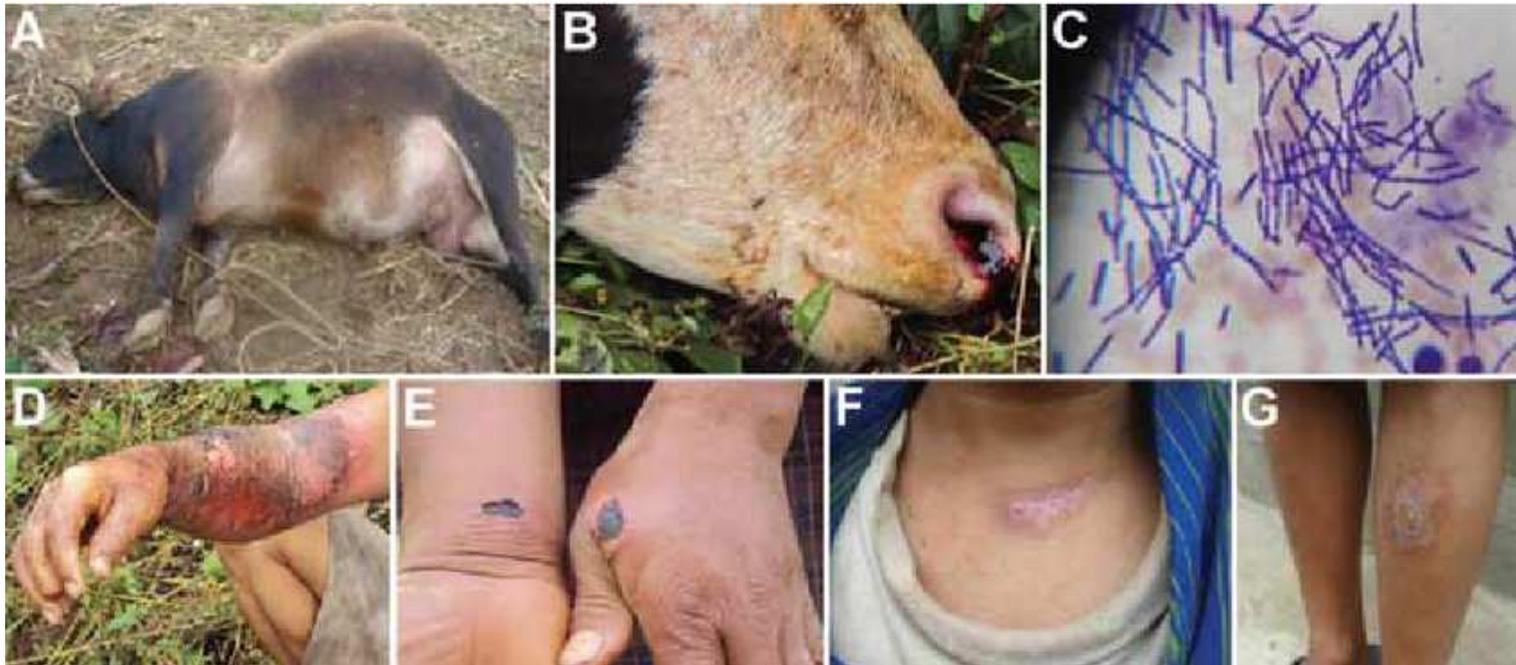
# **Febbre Q-*Coxiella burnetii***

## **Gestione focolai**

- **Complessa**
- **Prioritaria la corretta gestione dei parti e degli aborti!**
- **Pulizia e disinfezione (aborti, letame, evitare polvere)**
- **Vaccinazione per più anni**
- **Blocco movimentazione/eventuale abbattimenti solo in caso di malattia nell'uomo**
- **Evitare contatti per persone a rischio**

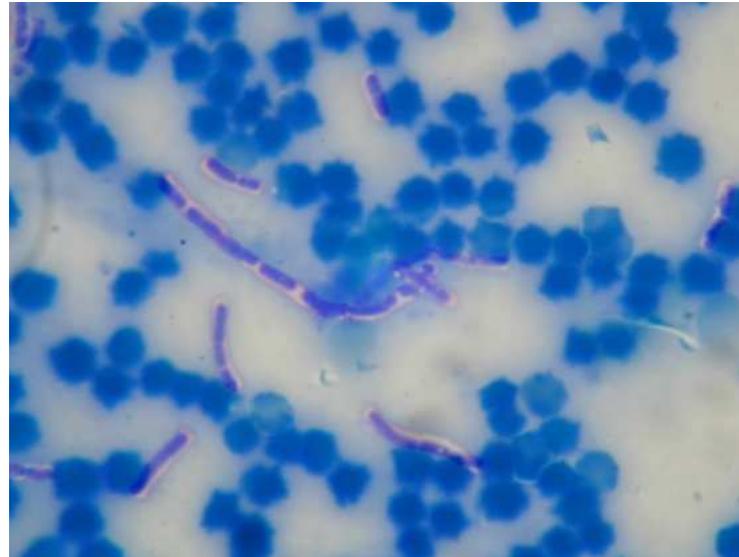
# Carbonchio ematico-*Bacillus anthracis*

Malattia infettiva contagiosa, ad andamento prevalentemente acuto o iperacuto



## Carbonchio ematico-*Bacillus anthracis*

**Bacillus anthracis**, germe **sporigeno**  
bastoncellare, Gram-positivo  
aerobio, appartenente alla famiglia  
delle Bacillaceae.



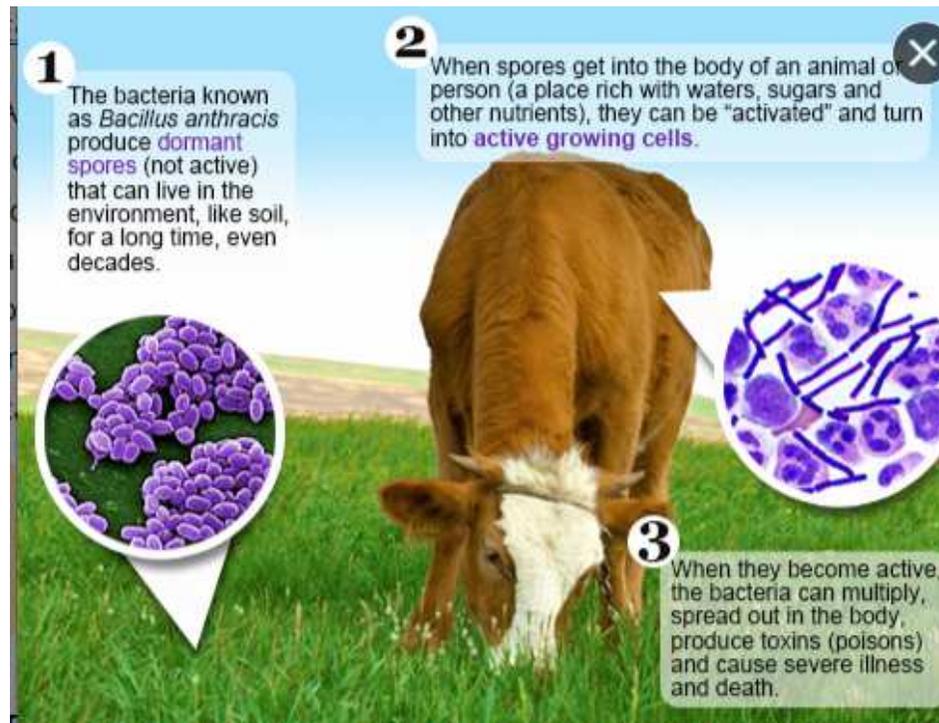
# Carbonchio ematico-*Bacillus anthracis*

## Sporigeno

Forma vegetativa, capsulata, dimostrata solo in organismi viventi, mentre in forma di spora nell'ambiente esterno.

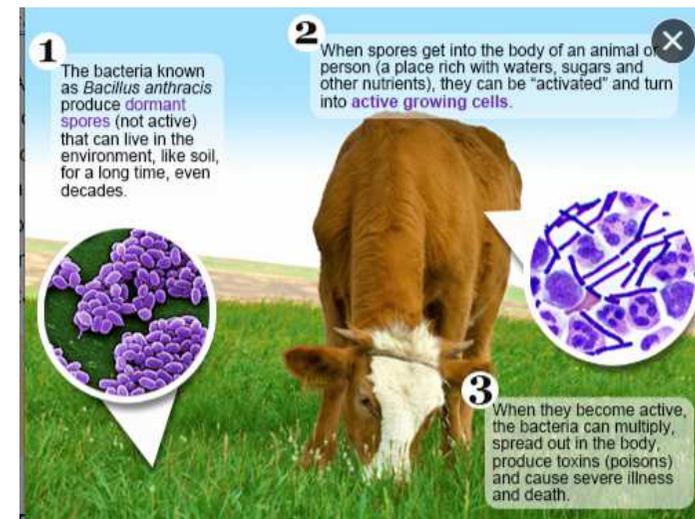
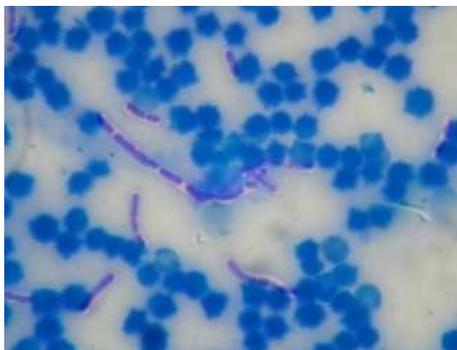
La spora è una **forma di quiescenza e di resistenza** attraverso cui il *B. anthracis* si mantiene a lungo vitale!

**Campi maledetti!**



# Carbonchio ematico-*Bacillus anthracis*

**L'infezione agrigena**, storicamente più frequente, è causata dalla contaminazione dei terreni su cui pascolano gli animali. L'incidenza dei focolai tende ad essere più alta in concomitanza di **recenti piogge successive a periodi caldi e siccitosi**, circostanze che alterano la struttura delle spore facilitandone la germinazione



## Carbonchio ematico-*Bacillus anthracis*

➤ Particolarmente **recettivi sono i ruminanti** (bovini, bufalini, ovini, caprini, cervidi e altri ungulati selvatici), nei quali la malattia, in genere ad esito fatale, presenta un decorso setticemico, acuto o iperacuto.

➤ **Morte improvvisa, emorragie, sangue non coagulato!**



## Carbonchio ematico-*Bacillus anthracis*

➤ In equini, suini e cani prevalgono forme localizzate (**faringe, intestino**) che possono portare a morte l'animale prima che si instauri una setticemia.

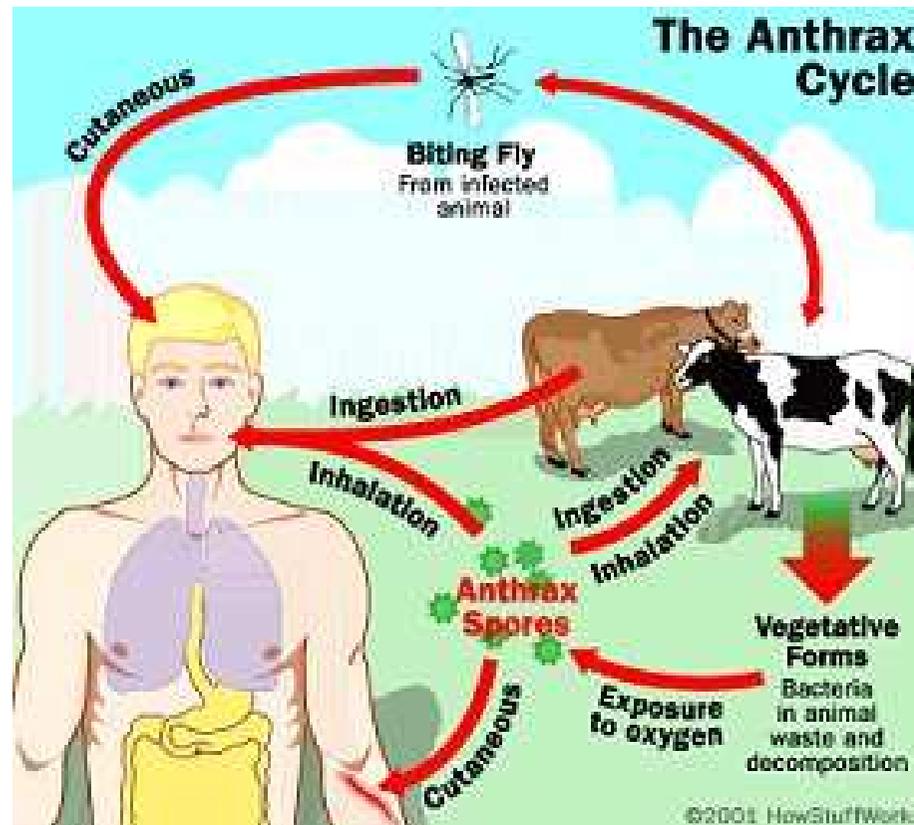
➤ Sospetto diagnostico più difficile!

# Carbonchio ematico-*Bacillus anthracis*

## UOMO

La via di contagio più comune è quella che deriva dal contatto con animali infetti, spesso durante la lavorazione di derivati animali come pelle, lana e ossa..

**ZOONOSI PROFESSIONALE**  
(allevatori, veterinari, soggetti che manipolano/lavorano le pelli degli animali)



# Carbonchio ematico-*Bacillus anthracis*

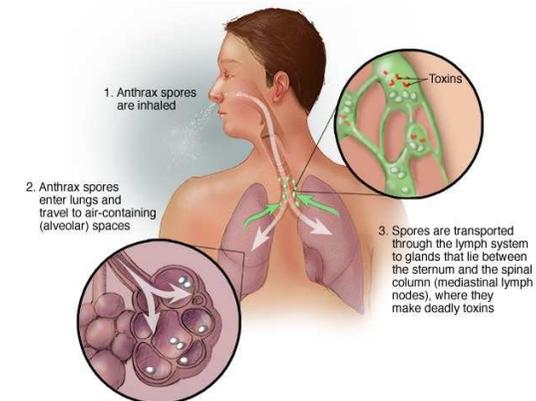
## UOMO

### Esistono **tre forme cliniche della malattia:**

➤ **Cutanea:** è la forma di gran lunga più frequente. L'infezione avviene per contatto, la spora penetra attraverso tagli, anche piccoli, o lesioni cutanee. Un iniziale rossore si trasforma in un paio di giorni in un'ulcera di piccole dimensioni a cui segue il rigonfiamento dei tessuti linfatici circostanti. Se non trattata la forma cutanea può essere letale nel 5-20% dei casi.



➤ **Respiratoria:** l'infezione avviene in seguito all'inalazione di spore, è la forma più grave, letale nella maggioranza dei casi. In genere si verifica a seguito di esposizione durante le lavorazioni di lane, pellami o farine di ossa contaminati.



➤ **Gastrointestinale:** piuttosto rara, l'infezione avviene per ingestione di carne e alimenti provenienti da animali malati. L'infezione intestinale da antrace è letale nel 25-60% dei casi.



## SURVEILLANCE REPORT

Annual Epidemiological Report for 2016

# Anthrax

### Key facts

- Anthrax continues to be a rare disease in humans in Europe, with only a few cases reported every year.
- In 2016, two EU/EEA countries reported six laboratory-confirmed anthrax cases: Romania (5) and Spain (1). The remaining 28 reporting countries notified no cases.



**Rara in Europa!..6 casi  
umani nel 2016 riportati**

## Carbonchio ematico-*Bacillus anthracis*

### DIAGNOSI

➤ Sospetto clinico/anmnestico: morte improvvisa, emorragie, zona storicamente a rischio, periodo estivo...



**Non aprire la carcassa!!!  
Rischio diffusione spore...**

## Carbonchio ematico-*Bacillus anthracis*

### DIAGNOSI

➤ Prelievo di sangue



➤ **Esame microscopico** (batteri Gram-positivi di forma bastoncellare con estremità tronche “a canna di bambù”, che presentano una caratteristica metacromasia della capsula,

➤ **Esame colturale** (Bacillo non emolitico)

➤ **Conferma e caratterizzazione** con metodi molecolari, fagotipizzazione



# Carbonchio ematico-*Bacillus anthracis*

<https://www.izslt.it/agentizoonosicispeciali/carbonchio-ematico-antrace/>

Nella carta tematica interattiva (realizzata ed aggiornata da Pasquale Rombolà, OEVR Lazio, IZSLT), è possibile visualizzare la localizzazione geografica dei focolai di Carbonchio ematico notificati nella provincia di Roma a partire dal 1952.

La mappa interattiva fornisce la possibilità di filtrare i focolai per decennio di insorgenza e per specie animale coinvolta.





**Grazie per l'attenzione U.O.C. D.O. DIG!**

**R.I.P. OLIVIA**



# Domande?



**KEEP  
CALM  
BECAUSE**

THIS IS NOT THE END OF THE WORLD

BUT THE END OF THIS PRESENTATION