

Ricerca Corrente IZSVE 22/07 Impiego di metodi biomolecolari per la diagnosi e lo studio delle clostridiosi animali

Responsabile scientifico: dott. Luca Bano

Abstract

Le enteriti e le enterotossiemie sostenute da batteri appartenenti al genere *Clostridium* causano pesanti perdite negli allevamenti da reddito e ingenti danni economici indiretti, dovuti alle spese per le terapie necessarie per il loro controllo.

La diagnosi di queste patologie è negativamente condizionata dai seguenti aspetti:

1. assenza di tecniche diagnostiche sensibili e rapide (ad es. enterite ulcerativa del pollame, sostenuta da *Clostridium colinum*);
2. scarsa conoscenza del ruolo che alcuni clostridi, noti per il loro potere patogeno negli animali e nell'uomo, rivestono in alcune specie d'interesse zootecnico (ad es. *Clostridium difficile* in allevamenti cunicoli e suinicoli);
3. scarsa conoscenza in merito alle implicazioni eziopatogenetiche di alcune tossine (ad es., la tossina β_2 di *Clostridium perfringens*).

Per quanto riguarda il coniglio, sono state recentemente definite le specie di clostridi implicate nelle patologie enteriche, restringendo il campo d'interesse a *C. spiroforme* e *C. perfringens* di tipo A. E' stato anche evidenziato che il 30% degli isolati di *C. perfringens* possiede il gene della tossina β_2 . Mentre non sussistono dubbi circa la patogenicità di *C. spiroforme*, restano incertezze sulle reali implicazioni eziologiche di *C. perfringens*. La questione non è irrilevante, considerata l'enfasi riservata dalle ditte farmaceutiche alla specifica attività di alcuni farmaci nei confronti di *C. perfringens* e l'attenzione farmacologica rivolta a questo microrganismo da parte dei clinici.

La produzione *in vitro* di adeguati quantitativi delle tossine β_2 ed α di *C. perfringens* potrebbe permettere di chiarire la loro reale patogenicità per il coniglio, mediante somministrazione ad animali stabulati. Allo stesso tempo, la disponibilità di tossina purificata permetterebbe la produzione di sieri iperimmuni e quindi lo sviluppo di metodi di laboratorio (ad es. immunoenzimatici) atti a rivelare la produzione di tossina β_2 *in vivo*, con una più stretta

correlazione col quadro clinico osservato. E' noto, infatti, come fattori diversi possano influenzare la reale espressione dei geni codificanti le tossine di *C. perfringens* e come ciò rappresenti un limite dei metodi di indagine biomolecolari.

I metodi di laboratorio sviluppati troverebbero applicazione in specie diverse, quali il pollo ed il bovino, in cui è nota la presenza di ceppi *cpb2+* di *C. perfringens*, senza che a ciò corrisponda chiarezza in merito alla loro rilevanza clinica.

Gli obiettivi del progetto sono pertanto:

- a. Clonaggio dei geni *plc* e *cpb2* in un vettore procariotico con espressione e purificazione delle tossine α e $\beta 2$ di *C. perfringens*.
- b. Allestimento di modelli animali per lo studio dell'enterite da tossina α e $\beta 2$ prodotte dal *C. perfringens*
- c. Sviluppo di un test ELISA per la rilevazione delle tossine α e $\beta 2$ nelle feci di animali da allevamento.
- d. Studio sul ruolo di *C. difficile* nel determinismo delle patologie gastroenteriche negli allevamenti da reddito e sviluppo di metodi biomolecolari di indagine applicabili a campioni biologici
- e. Sviluppo di tecniche innovative di biologia molecolare per la diagnosi di enterite ulcerativa nel pollame