

**Ricerca Corrente IZSVE 31/07 Miglioramento della diagnostica di *Mycoplasma* spp.: applicazione di immunofluorescenza diretta su campioni di organo di suino e di bovino. Sviluppo di metodiche per la preparazione di antigeni e di antisieri anti-*Mycoplasma* spp.**

**Responsabile scientifico:** dott. Luciano Iob

**Abstract**

*Mycoplasma* spp. ricopre da sempre un ruolo molto importante nell'ambito della patologia animale. Si tratta di microrganismi privi di parete batterica, con esigenze colturali particolari e, talvolta, di difficile isolamento ed identificazione. Gli aspetti fenotipici delle diverse specie, infatti, non sono rilevabili con i sistemi in macro o micrometodo impiegati di solito per l'identificazione batterica, pertanto per la loro identificazione da coltura si ricorre a metodiche indirette, quali immunofluorescenza (IF), immunistoichimica; all'utilizzo di antisieri specie-specifici o all'individuazione di determinanti genici mediante metodiche di biologia molecolare. Ne consegue che i tempi necessari per l'isolamento e l'identificazione di questi microrganismi si allungano di molto: in media sono richiesti per l'esame colturale 10 giorni in caso di campioni biologici prelevati da mammiferi e 20 giorni per quelli di origine aviaria. Come conseguenza si protrae nel tempo anche la possibilità di accertare il loro ruolo eziologico all'interno di episodi di malattia con ripercussioni negative dirette per quel che riguarda la gestione del focolaio e degli interventi di terapeutici e con riflessi negativi indesiderati sul ruolo del laboratorio e l'efficienza delle prestazioni fornite.

Un accorciamento dei tempi di risposta si rende pertanto auspicabile sia per le implicazioni di tipo diagnostico: corretta diagnosi eziologica, applicazione in tempi brevi di adeguati interventi terapeutici e/o profilattici, sia per le implicazioni di tipo economico perché un utilizzo razionale e mirato del farmaco in allevamento, oltre a risultare maggiormente efficace ai fini terapeutici, concorre a contenere i costi complessivi di produzione.

Un altro aspetto importante da considerare è che spesso questi microrganismi fanno parte della flora microbica saprofita delle prime vie aeree degli animali e che un eventuale loro ruolo patogeno dipende dal numero dei microrganismi presenti (carica). Sono pertanto

necessarie metodiche diagnostiche rapide in grado però di fornire indicazioni sulla carica del microrganismo effettivamente presente in modo da escludere false positività.

Le metodiche utilizzate di routine nella diagnostica delle infezioni da *Mycoplasma* spp. comprendono: PCR, immunofluorescenza (IF) diretta, sieroagglutinazione rapida ed isolamento colturale con identificazione successiva dei ceppi batterici mediante IF indiretta. La prima risulta veloce e sensibile, ma non dà in indicazioni di tipo quantitativo e viene attualmente usata per l'individuazione di sole quattro specie. L'IF diretta è un tecnica abbastanza rapida, ma poco sensibile (circa 50%) ed è utilizzata prevalentemente per la diagnosi di *Mycoplasma hyopneumoniae* che presenta notevoli difficoltà di crescita sui terreni colturali. L'esame sierologico è utilizzato di frequente negli allevamenti avicoli sia in caso di sospetta micoplasmosi, sia come strumento per il controllo delle infezioni da *Mycoplasma gallisepticum* in animali vivi destinati alla commercializzazione. Il test è di rapida esecuzione e permette l'esame di un gran numero di campioni di siero in tempi brevi, tuttavia presenta alcuni limiti dovuti al problema delle false positività e alla necessità di utilizzare un antigene standardizzato costoso e di difficile reperimento in commercio.

La ricerca si propone di migliorare le metodiche diagnostiche attualmente in uso mediante:

- 1) produzione di antigeni per la ricerca di anticorpi anti *Mycoplasma* spp. in particolare *M. gallisepticum* e *M. synoviae*).
- 2) produzione di antisieri iperimmuni verso le principali specie di micoplasmi patogeni per il tratto respiratorio di bovini e suini
- 3) stesura di protocolli per il controllo di qualità degli antigeni e degli antisieri
- 4) stesura e validazione dei protocolli produttivi