

## Ricerca corrente IZS VE 05/12

**Sviluppo di un metodo basato sulla spettrometria di massa per la rilevazione delle neurotossine botuliniche**

**Responsabile Scientifico: Dr. Luca Bano**

Le neurotossine botuliniche (BoNT) sono tra le sostanze più velenose conosciute e per questo motivo sono anche considerate una possibile arma bioterroristica (1). Le BoNT sono prodotte da alcuni batteri del genere *Clostridium* in particolare *C. botulinum*, *C. baratii*, *C. butyricum* e *C. argentinense* e sono suddivise in sette sierotipi, da A a G, sulla base della loro in base alla loro attività antigenica. Nell'uomo gli episodi di malattia sono sostenuti quasi esclusivamente dai sierotipi A, B, E e F mentre i casi di botulismo animale sono da ricondurre prevalentemente ai sierotipi C e D (2).

Il metodo di riferimento per la **rilevazione** e l'**identificazione della tossina**, sia in alimenti che in campioni clinici, è la prova biologica condotta su topino (mouse bioassay). Questo metodo è sensibile, specifico ed è in grado di misurare l'attività della tossina, ma risulta essere dispendioso in termini di tempo e pone delle questioni etiche poichè richiedere il sacrificio di numerosi animali (3).

Recentemente un gruppo di ricerca del Centers for Disease and Control di Atlanta (USA) ha messo a punto un metodo basato sulla tecnologia MALDI-TOF per la rilevazione e la differenziazione in sierotipi delle tossine botuliniche. Questo metodo, denominato Endopep-MS, accoppiato con la cattura e la concentrazione delle tossine mediante l'utilizzo di anticorpi specifici, è stato applicato con successo su campioni di siero e feci per la rilevazione delle tossine A, B, E ed F e promettenti risultati sono stati ottenuti anche con le tossine C e D. Mediante questo metodo è possibile, infatti, non solo valutare la presenza delle tossine ricercate in modo specifico ma anche misurare la loro attività riducendo quindi drasticamente o addirittura soppiantando la prova biologica su topo (4,5).

La **spettrometria di massa** è recentemente diventata un importante strumento d'indagine nei laboratori di microbiologia sia per l'identificazione batterica che per la subtipizzazione come lo dimostrano i recenti lavori pubblicati su MRSA, *C. difficile* e Legionella. Alla luce di ciò questo tipo di approccio potrebbe risultare utile anche per studi di tipo epidemiologico su batteri produttori di neurotossine.

Gli **obiettivi** specifici della ricerca sono quindi:

- sviluppare e validare un metodo basato sulla spettrometria di massa per la determinazione della presenza di tossine A, B, E e F in alimenti e campioni biologici
- sviluppare e validare un metodo basato sulla spettrometria di massa per la rilevazione di tossine C e D in campioni di origine animale
- realizzare un database per l'identificazione e la tipizzazione dei clostridi neurotossina produttori mediante spettrometria di massa.